

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

PŮDNÍ ROZTOK – SUPRAMOLEKULÁRNÍ ARCHITEKTURA A STABILITA ROZPUŠTĚNÉ ORGANICKÉ HMOTY

SOIL SOLUTION - SUPRAMOLECULAR ARCHITECTURE AND STABILITY OF DISSOLVED ORGANIC MATTER

DIPLOMOVÁ PRÁCE MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE AUTHOR Bc. Eliška Trubková

VEDOUCÍ PRÁCE SUPERVISOR

doc. Ing. Vojtěch Enev, Ph.D.

BRNO 2024



Zadání diplomové práce

Akademický rok: 2023/24

Číslo práce:	FCH-DIP1985/2023
Ústav:	Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka:	Bc. Eliška Trubková
Studijní program:	Chemie a chemické technologie
Studijní obor:	bez specializace
Vedoucí práce:	doc. Ing. Vojtěch Enev, Ph.D.

Název diplomové práce:

Půdní roztok – supramolekulární architektura a stabilita rozpuštěné organické hmoty

Zadání diplomové práce:

Cílem této diplomové práce je komplexní fyzikálně–chemická charakterizace půdních roztoků, které obsahují určitý podíl rozpuštěné organické hmoty DOM, jež je představitelkou mobilní frakce organické hmoty v půdním profilu.

Dále je tato diplomová práce zaměřena na studium molekulární architektury rozpuštěné organické hmoty, a to zejména s ohledem na doposud všeobecně platnou teorii supramolekulárního uspořádání huminových sloučenin a jejich frakcí.

Nejdříve bude studentkou provedena podrobná literární rešerše zohledňující metody získání půdního roztoku a vhodných instrumentálních technik, které jsou ke studiu a charakterizaci tohoto organického materiálu používány. Dále bude rešerše zaměřena na představení dvou rozdílných konceptů pojetí rozpuštěné organické hmoty v přírodních ekosystémech, jako je půda.

V první části budou nativní vzorky půdního roztoku podrobeny fyzikální úpravě, a to tak, aby v průběhu jejich skladování nedocházelo k jejich fyzikálně–chemickým a mikrobiologickým změnám – degradaci.

Takto připravené vzorky půdního roztoku budou podrobeny základním fyzikálně–chemickým charakterizacím tzn. měření pH, konduktivity, obsahu anorganických prvků atd. Celkový obsah DOM bude stanoven pomocí technické normy ČSN 75 7536. Dále tyto vzorky budou následně charakterizovány pomocí spektrometrických metod, a to s hlavním přispěním fluorescenční spektrometrie a dynamického rozptylu světla DLS.

Termín odevzdání diplomové práce: 29.4.2024:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Eliška Trubková doc. Ing. Vojtěch Enev, Ph.D. prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc. vedoucí ústavu vedoucí ústavu V Brně dne 1.2.2024 prof. Ing. Michal Veselý, CSc. děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce je zaměřena na komplexní fyzikálně-chemickou charakterizaci půdních roztoků, zejména se zaměřením na studium stability a molekulární architektury rozpuštěné organické hmoty. Předmětem studia bylo šest půdních roztoků získaných z lyzimetrů v lokalitě Závišín. Tři vzorky půdních roztoků byly odebrány v prosinci 2022 a zbývající tři vzorky o měsíc později v lednu 2023, a to v horizontech ve 40, 60 a 80 cm pod povrchem půdy.

Charakterizace půdních roztoků zahrnovala měření jejich pH a konduktivity. Pro stanovení koncentrace kationtů byla využita hmotnostní a optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Stanovení celkového obsahu rozpuštěné organické hmoty bylo provedeno podle technické normy ČSN 75 7536 a pomocí UV/Vis spektrometrie byly vypočteny hodnoty absorpčních koeficientů. Na základě vyhodnocených spekter z infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací byly identifikovány funkční skupiny a základní struktury půdních roztoků. Hlavním přínosem byla fluorescenční spektrometrie, pomocí níž byly stanoveny intenzity fluorescence fluoroforů A–fulvic-like a C–humic-like. Také byla měřena velikost částic pomocí dynamického rozptylu světla a zeta potenciál, který byl vhodným ukazatelem stability vybraných vzorků půdních roztoků. Získané výsledky velmi dobře charakterizovaly, jak jednotlivé půdní roztoky, tak i rozpuštěnou organickou hmotu.

KLÍČOVÁ SLOVA

absorpční koeficienty, DLS, DOM, fluorofor A-fulvic-like, fluorofor C-humic-like, FTIR spektrometrie, ICP-OES, půdní roztok, zeta potenciál

ABSTRACT

This final thesis is focused on the complex physico-chemical characterization of soil solutions, especially with a focus on the study of the stability and molecular architecture of dissolved organic matter. The subject of the study was six soil solutions obtained from lysimeters in the Závišín locality. Three soil solution samples were taken in December 2022 and the remaining three samples were taken one month later in January 2023, at horizons at 40, 60 and 80 cm below the soil surface.

Characterization of soil solutions included measurements of their pH and conductivity. Mass and optical emission spectrometry with inductively coupled plasma was used to determine the concentration of cations. The determination of the total dissolved organic matter content was carried out according to the technical standard ČSN 75 7536 and the values of absorption coefficients were calculated using UV/Vis spectrometry. Functional groups and basic structures of soil solutions were identified based on the evaluated spectra from infrared spectrometry with Fourier transformation. The main contribution was fluorescence spectrometry, which was used to determine the fluorescence intensities of A–fulvic-like and C–humic-like fluorophores. Particle size was also measured using dynamic light scattering and zeta potential, which was a suitable indicator of the stability of selected soil solution samples. The obtained results very well characterized both individual soil solutions and dissolved organic matter.

KEY WORDS

absorption coefficients, DLS, DOM, fluorophore A-fulvic-like, fluorophore C-humic-like, FTIR spectrometry, ICP-OES, soil solution, zeta potential

TRUBKOVÁ, Eliška. Půdní roztok – supramolekulární architektura a stabilita rozpuštěné organické hmoty. Brno, 2024. Dostupné také z: https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/156730. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Vojtěch Enev.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu mé diplomové práce doc. Ing. Vojtěchu Enevovi, Ph.D. za jeho odborné vedení, cenné rady, trpělivost, a především veškerý čas, který mi věnoval. Dále bych chtěla poděkovat všem, kteří mi pomohli k úspěšnému dokončení této práce.

OBSAH

1	ÚV	DD		9
2	TEO	ORETIC	CKÉ ZÁKLADY	10
	2.1	Půda		
		2.1.1	Složení půdy	10
	2.2	Půdní	roztok	
		2.2.1	Složení půdního roztoku	13
		2.2.2	Funkce půdního roztoku	14
	2.3	Rozpu	štěná organická hmota (DOM)	16
		2.3.1	Výskyt DOM	17
		2.3.2	Složení DOM	
		2.3.3	Reakce DOM	
		2.3.4	Faktory ovlivňující obsah DOM	22
	2.4	Lyzim	etrie	
	2.5	Metod	y charakterizující půdní roztok	
		2.5.1	UV/Vis spektrometrie	24
		2.5.2	Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací	25
		2.5.3	Fluorescenční spektrometrie	
		2.5.4	Dynamický rozptyl světla (DLS) a zeta potenciál	27
		2.5.5	Optická emisní a hmotnostní spektrometrie s indukčně	vázaným
•		plazma v č v covi	$\frac{1}{2}$	
3	SOL	JCASN	Y STAV RESENE PROBLEMATIKY	
4	EXI	PERIMI	ENTALNI CAST	
	4.1	Použite	é chemikálie	
	4.2	Použite	é přístroje	
	4.3	Fyziká	lně-chemická charakterizace	
		4.3.1	Měření pH a konduktivity	
		4.3.2 plazma	Optická emisní a hmotnostní spektrometrie s indukčně utem	vázaným 34
		4.3.3	UV/Vis spektrometrie	
		4.3.4	Infračervená spektrometrie	35
		4.3.5	Fluorescenční spektrometrie	35
		4.3.6	Dynamický rozptyl světla a zeta potenciál	

5	VÝS	SLEDKY A DISKUZE	. 37
	5.1	pH a konduktivita	37
	5.2	Optická emisní a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem	38
	5.3	UV/Vis spektrometrie	. 39
	5.4	FTIR spektrometrie	. 42
	5.5	Fluorescenční spektrometrie	. 47
	5.6	Dynamický rozptyl světla	50
	5.7	Zeta potenciál	52
6	ZÁV	/ĚR	53
7	LIT	ERATURA	55
8	SEZ	NAM ZKRATEK A SYMBOLŮ	60
	8.1	Seznam zkratek	60
	8.2	Seznam symbolů	60
PŘÍ	LOH	Y	61

1 ÚVOD

Půdní roztok představuje komplexní a dynamický prostředek, který hraje klíčovou roli v transportu živin nezbytných pro životní procesy v půdním prostředí. Složení půdního roztoku ovlivňuje růst rostlin a aktivitu mikroorganismů, jelikož umožňuje interakce mezi různými složkami půdy, jako jsou minerály, organická hmota nebo i plyny. Zvláště důležitý je obsah rozpuštěné organické hmoty (DOM), jež je mobilní částí v půdním prostředí, a hraje klíčovou roli v udržování půdní struktury a živinového koloběhu. Důkladné porozumění těmto procesům je zásadní pro optimalizaci zemědělských postupů, neboť půdní roztok zajišťuje transport živin ke kořenům rostlin, dále chrání půdu před degradací a umožňuje udržitelné využívání přírodních zdrojů.

Tato diplomová práce si klade za cíl fyzikálně-chemickou charakterizaci půdních roztoků, jež obsahují rozpuštěnou organickou hmotu. Pozornost je také zaměřena na analýzu molekulárních struktur a stabilitu DOM v půdních roztocích v závislosti na hloubce půdy, a také je pozornost zaměřena na změny, které tyto roztoky prodělaly během jednoho měsíce. Na základě stanovených cílů, bylo vybráno šest vzorků půdního roztoku z lokality Závišín. Tři vzorky byly odebrány v prosinci 2022 a zbývající tři v lednu 2023. Při každém odběru byly odebrány vzorky v různých hloubkách, konkrétně ve 40, 60 a 80 cm pod povrchem půdy.

Diplomová práce je strukturována do dvou hlavních částí. Nejdříve je představena teoretická část zabývající se složením půdy, půdním roztokem a rozpuštěnou organickou hmotou. Dále jsou popsány analytické metody, které jsou použity k charakterizaci půdního roztoku. Mezi tyto metody se řadí spektrometrické metody, jako jsou UV/Vis, FTIR a fluorescenční spektrometrie. Dalšími zvolenými analytickými metodami jsou ICP-OES, ICP-MS, DLS a pro posouzení stability těchto půdních roztoků je provedeno měření jejich zeta potenciálu. Poté jsou, v druhé části, prezentovány výsledky a diskutovány jejich implikace pro porozumění supramolekulární architektuře a stabilitě organické hmoty v půdním roztoku.

2 TEORETICKÉ ZÁKLADY

2.1 Půda

Půda v sobě nese klíčový význam pro ekvilibrium přírodního prostředí a je nositelem nespočtu funkcí, které jsou zásadní pro život lidí a zvířat. Tato multifunkčnost půdy se projevuje především v environmentální, sociální a ekonomické rovině. Půda plní roli nejen jako základ pro obnovitelné zdroje energie a surovin, ale také výrazně ovlivňuje koloběh látek v půdě, což může mít vliv na emisi různých plynů do atmosféry. Její prostředí tvoří ideální místo pro širokou paletu organismů, což mimo jiné vytváří genovou rezervu s potenciálem pro mnoho technologických inovací a procesů. Půda také hraje klíčovou roli v průmyslových a socioekonomických oblastech. Je klíčovým faktorem pro život a potřebuje naši pozornost, zejména jestliže se zajímáme o udržení rovnováhy v přírodě [1; 2].

Půda představuje porézní prostředí, které bylo vytvořené v důsledku působení půdotvorných faktorů, mezi které se například řadí klima, matečná hornina, vegetace, edafon a reliéf. Nejdříve zvětráváním matečné horniny dochází ke vzniku půdy a následně vzniklé produkty zvětrávání jsou výrazně ovlivněny klimatem, v němž se půda utváří. Právě klima má vliv na rychlost zvětrávání a délku vegetačního období. Půda je otevřený systém, tedy vyměňuje energii a hmotu s okolím. Výměna energie a hmoty s okolím je velmi proměnlivá a zásadní pro vývoj půdních profilů a kvality půdy [3; 4].

2.1.1 Složení půdy

Půda je komplexní systém, jenž zahrnuje pevnou, kapalnou a plynnou fázi. Pevná část půdy se skládá především z minerálních částic. Další důležitou částí půdy jsou organické látky. Kapalnou a plynnou fázi půdy tvoří půdní voda a půdní vzduch. V grafickém znázornění, na obrázku 1, je uvedeno procentuální zastoupení jednotlivých složek půdy [5].



Obrázek 1: Procentuální složení půdy

Je však důležité si uvědomit, že relativní zastoupení jednotlivých složek může vykazovat značnou proměnlivost. Tato variabilita je ovlivněna různými faktory, jako je textura a struktura půdy či vlhkostní podmínky v konkrétním prostředí [5].

Pevná část půdy je z více jak 90 % tvořena z anorganických sloučenin. Výjimku tvoří histosoly, které jsou především tvořeny organickými materiály. Anorganické pevné sloučeniny v půdě jsou v metastabilním stavu v důsledku zvětrávání, kdy dochází k přechodu z nehomogenní nepravidelné struktury na více homogenní strukturu. Nicméně mezi časté půdní minerály s relativně stálým složením se řadí například křemen, živec, slída nebo i hematit. Složení jednotlivých frakcí zeminy vytváří charakteristickou texturu půdy, která je klíčovým faktorem ovlivňující dostupnost a pohyb tekuté a plynné fáze v půdě. Písčité půdy disponují vyšším celkovým objemem pro vodu a vzduch, což zajišťuje efektivní pronikání vody a odpařování vedoucí k rychlým změnám půdní vlhkosti a zlepšenému provzdušňování půdy. V kontrastu k tomu, jílovité půdy obsahují mnoho kapilárních pórů, které zadržují vodu a omezují provzdušňování a cirkulaci vody. Textura půdy a velikost pórů nejsou důležité pouze pro tok půdního roztoku a provzdušnění půdy, ale také pro život půdních organismů [3; 6].

Plynná fáze v půdním prostředí, známá jako půdní vzduch, obvykle sdílí podobné složení s atmosférickým vzduchem. Avšak v důsledku biologické aktivity v půdě se může procentuální složení půdního vzduchu výrazně odlišovat od atmosférického vzduchu. Po dešťových srážkách, zavlažování nebo v izolovaném mikroprostředí půdy poblíž kořenů rostlin může docházet ke změnám a obsah půdního vzduchu může výrazně klesnout. Podobně frakční objem CO₂ v půdním vzduchu obvykle kolísá v rozmezí 3 až 30 ml·l⁻¹, ale v hloubce 1 m v blízkosti kořenů rostlin nebo po záplavě půdy se může přiblížit až 100 ml·l⁻¹. Tato výrazně vyšší koncentrace CO₂ v půdním vzduchu ve srovnání s atmosférou má značný vliv nejen na kyselost půdy, ale i na reakce spojené s uhlíkem. Půdní vzduch obsahuje také variabilní, avšak klíčové příspěvky H₂, NO, N₂O, NH₃, CH₄ a H₂S, které jsou produkované mikrobiální aktivitou v podmínkách nízkého nebo stopového obsahu kyslíku [3].

V půdní hydrologii převažuje půdní voda v podstatě ve fázi kondenzované kapaliny, ačkoliv obsah vodní páry v půdním vzduchu může v případě vlhké půdy dosáhnout hodnoty přibližně 30 ml·1⁻¹. Půdní voda, ve své podstatě představuje jakýsi rezervoár pro rozpuštěné pevné látky a plyny, což jí přisuzuje charakter půdního roztoku. Vzhledem k rozpuštěným pevným látkám v půdním roztoku jsou pro chemii půdy zvláště významné ty, které disociují na ionty v půdním roztoku [3].

Organická složka půdy je zastoupena půdní organickou hmotou a půdními organismy viz obrázek 2. Půdní organickou hmotu tvoří rostlinné a živočišné tkáně v různém stadiu rozkladu. Půdní organické látky se dělí na nehuminové, které zahrnují nezměněné nebo slabě změněné sloučeniny a druhou skupinou jsou látky huminové. Huminové látky prošly procesem humifikace, při kterém vznikají nové struktury, a to fulvinové kyseliny, huminové kyseliny a humin. Tyto vzniklé huminové látky mají vyšší molekulární hmotnost oproti výchozímu

materiálu, a to v případě, pokud se na jejich genezi díváme prismatem několika publikovaných polymerních teorií [6].

Půda, která je zároveň hlavním rezervoárem života na Zemi, je domovem pro rozmanité formy života, od mikroskopických bakterií až po viditelné rostliny. Tyto půdní organismy hrají klíčovou roli v udržování zdravého půdního ekosystému, například mají vliv na každý aspekt rozkladu organické hmoty a ovlivňují dostupnost živin v půdním prostředí. Tato komunita také hluboce formuje strukturu půdy tím, že vytváří mikrokanály, které usnadňují infilraci vody a zlepšují celkové provzdušňování půdy [7].



Obrázek 2: Rozložení organických látek v půdě [8]

2.2 Půdní roztok

Půdní roztok je kapalnou složkou půdy, která obsahuje organické i anorganické látky, a to v závislosti na konkrétním typu půdy. Jeho význam je zásadní pro několik klíčových procesů spojených s formováním půdy, dostupností živin pro rostliny a rozvojem živočichů [4].

Proces vstupu iontů, sloučenin a prvků do půdního roztoku je komplexní a zahrnuje přechody z pevné i plynné fáze. Těmito způsoby do roztoku vstupují látky z hnojiv, exkrementů půdní bioty, atmosférických srážek a podzemních vod. V důsledku toho je složení, koncentrace, pH a osmotický tlak půdního roztoku neustále v pohybu a podléhá dynamickým změnám.

Minerální složení půdy, stupeň zasolení a obecně přírodní podmínky mají významný vliv na koncentraci a obsah solí v půdním roztoku [2].

2.2.1 Složení půdního roztoku

Prvky, přítomné v půdním roztoku, se vyskytují volně jako ionty nebo v komplexu s jinými atomy. Minerály, které obsahují slabé kovalentní vazby (např. NaCl, CaSO₄·2 H₂O), mají schopnost snadno difundovat do půdního roztoku a následně vytvářet rozpustné komplexy. Minerály jsou schopny provádět výměnu iontů, jako jsou Na⁺, Mg²⁺ a Cl⁻, avšak tato výměna probíhá pouze na povrchu minerální struktury, neboť vnitřní mřížka minerálu silně váže ionty. Naopak minerály, které mají pevnou kovalentní vazbu (např. hlinitokřemičitany, oxidy kovů), podléhají pouze hydrataci a ionty neuvolňují. Přehled iontů, které obsahuje půdní roztok jsou uvedeny v tabulce 1 [3; 9].

	Hlavní ionty $(10^{-4}-10^{-2} \text{ mol} \cdot l^{-1})$		$Ostatní (<10^{-2} mol \cdot l^{-1})$
Kationty	$Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^+, Na^+$	$\begin{array}{c} Fe^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+}, \\ NH_4^+, Al^{3+} \end{array}$	Cr ³⁺ , Ni ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺
Anionty	HCO ³⁻ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻	$H_2PO_4^-, F^-, HS^-$	CrO ₄ ^{2–} , HMoP ₄ [–]

Tabulka 1: Obsah iontů v půdním roztoku

Uvedené koncentrace v tabulce 1 jsou pouze hrubými odhady a mohou se výrazně lišit v závislosti na specifických vlastnostech dané půdy. V případě silně kyselých půd může dojít k nižším hodnotám Ca²⁺ a Mg²⁺ a naopak k vyšším koncentracím Al³⁺. V půdách s redukčními podmínkami a zvýšenou vlhkostí lze očekávat dominantní přítomnost iontů Fe²⁺ a HS⁻. Ionty z kategorie ostatní mohou vykazovat zvýšené koncentrace v půdách s kontaminací [5].

Komplex je jednotka obsahující centrální ion nebo molekulu, která je navázána na jeden nebo více dalších iontů nebo molekul tak, že je udržována stabilní molekulární asociace. Jestliže je centrální ion přímo spojen s ligandy tvořícími komplex, vytváří se tzv. vnitřní sféra. Naopak, pokud je jedna nebo více molekul vody vložena mezi centrální ion nebo molekulu a ligandy, tak takový komplex vytváří vnější sféru. Komplexy s vnitřní sférou obvykle vykazují větší stabilitu než komplexy s vnější sférou, protože nedochází k snadné tvorbě iontové nebo kovalentní vazbě mezi centrálním kovovým kationtem a ligandem. Hnací silou pro stabilitu komplexů s vnitřní sférou je energie získaná vytvořením silné vazby mezi centrálním kovovým iontem a ligandem. Naopak u komplexů s vnější sférou není energetický zisk z tvorby vazby tak výrazný. Hlavním pohonným mechanismem zde je spíše porucha v koordinační sféře kolem centrálního kovového kationtu. Tato porucha vzniká v důsledku vazby ligandu, což může zahrnovat narušení hydratačního obalu, zejména když se anion koordinuje s kovovým kationtem prostřednictvím svého solvatačního komplexu, což vede k vytvoření elektrostatické vazby. Tvorba kovových komplexů je typicky velmi rychlá reakce pokud nejsou zapojeny huminové ligandy. Oktaedrický komplex mezi Al³⁺ a molekulami vody je označován jako vnitřní sféra, avšak častěji se používá termín solvatační komplex. Solvatační komplexy, které zahrnují volné ionty jako Al³⁺ nebo NO₃⁻, jsou ve skutečnosti reprezentací všudypřítomných interakcí mezi nabitými částicemi a molekulami vody v roztoku a odrážejí všudypřítomné interakce mezi nabitými látkami a molekulami vody ve vodném roztoku [3; 10].

Přítomné rozpustné komplexy v půdním roztoku jsou především protonové komplexy, ve kterých jsou anionty centrálním iontem a protony na něm navázány. Jedná se například o hydrgenuhličitan (HCO₃⁻), jež tvoří hlavní chemickou formu uhlíku v půdním roztoku. Mezi další významné rozpustné komplexy, vznikající minerálním zvětráváním, patří Si(OH), kyselina křemičitá nebo oxalátový komplex Al³⁺. Další složku půdního roztoku tvoří cheláty. Cheláty představují složité chemické sloučeniny, které vznikají spojením dvou nebo více donorových atomů v rámci stejného ligandu, přičemž tento ligand je připojen k jednomu centrálnímu atomu. Jinými slovy, cheláty vznikají, jestliže ligand obsahuje více funkčních skupin vázaných v komplexu s kovovým iontem. V půdním roztoku se obvykle nachází široká škála 100-200 různých rozpuštěných komplexů. Převažující část těchto komplexů je sestavena z kovového centrálního iontu a organických ligandů. Významný vliv na komplexní formy v půdním roztoku májí oxidačně redukční podmínky a pH. Při nízkém pH jsou preferovány volné kovové kationty a protonované anionty, zatímco při vysokém pH se zvyšuje podíl karbonátových a hydroxylových komplexů. V prostředí s redukčními podmínkami dochází v půdním roztoku k nárůstu koncentrací dvojmocných iontů železa a manganu, a naopak je pozorován pokles obsahu dusičnanů a síranů. Tato změna v koncentracích má významné důsledky, neboť ovlivňuje dostupnost živin pro rostliny a současně může ovlivnit celkovou chemickou dynamiku půdního prostředí [3].

V půdním roztoku hraje klíčovou roli rozpuštěná organická hmota (DOM – Dissolved Organic Matter). Rozpuštěná organická hmota představuje komplexní směs organických sloučenin s proměnlivým složením a vlastnostmi. Tato složka roztoku je důležitým zdrojem energie a živin, které jsou snadno dostupné pro půdní mikrobiotu. Součástí DOM jsou nízkomolekulární látky, jako jsou cukry, organické kyseliny a aminokyseliny. Jejich přítomnost má významný vliv na ekosystém půdy, ovlivňující biodostupnost živin a energetické toky v půdním prostředí [5].

2.2.2 Funkce půdního roztoku

Půdní roztok uskutečňuje řadu klíčových úloh v ekosystému půdy viz obrázek 3. Půdní roztok slouží jako prostředník pro transport minerálních živin, které jsou nezbytné pro výživu a růst rostlin. Jeho hlavní funkce spočívá v dodávání rostoucím rostlinám minerální živiny, včetně dusíku, fosforu, draslíku a dalších prvků, které jsou nezbytné pro metabolické procesy a tvorbu buněk. Rostliny přijímají živiny z půdního roztoku pomocí svých kořenů, a tím vytvářejí výchozí bod pro vstup živin do potravního řetězce. Rostliny aktivně vylučují různé látky do půdního roztoku pomocí procesu zvaného kořenová exudace. Tento jev spočívá ve vylučování látek do půdy přes kořenové výměšky rostlin. Tyto látky mohou být jak anorganické, tak organické a mají různé účely. Některé látky slouží k přitahování symbiontů a prospěšných organismů, zatímco jiné mohou být využívány k odstrašení nebo eliminaci patogenů a parazitů. Kořenové exudáty také umožňují rostlinám komunikovat s okolními rostlinami. Pomocí těchto látek rostliny mohou potlačovat růst konkurenčních rostlin nebo se vyhýbat konkurenci s příbuznými rostlinami. Parazitické rostliny využívají kořenové exudáty

jako signály, které jim pomáhají najít vhodné hostitelské rostliny. Celkově tedy kořenová exudace hraje klíčovou roli ve vzájemných interakcích rostlin s jejich okolním prostředím [4].

Půdní roztok hraje důležitou roli jako prostředník pro dodávání nezbytných živin mikroorganismům v půdě. Tento roztok nese širokou škálu minerálních látek, které jsou nezbytné pro život a růst mikroorganismů. Mikroorganismy jsou schopny rozkládat organické sloučeniny na jednodušší formy. Během tohoto degradačního procesu dochází k uvolňování živin, které jsou k dispozici rostlinám a dalším členům půdního ekosystému [6].

Při nadbytku určité minerální sloučeniny v půdním roztoku dochází k procesu zvanému vysrážení. Tento jev spočívá v tom, že určité minerály dosáhnou hranice své rozpustnosti v roztoku a vytvoří pevné částice nebo krystaly, které se vysrážejí. Tento proces může být pozorován při změně podmínek v půdním prostředí, jako jsou změny v teplotě, pH nebo koncentraci dalších látek. Naopak, jiné minerály se rozpouštějí, zůstávají v půdním roztoku a jsou dostupné pro rostliny a mikroorganismy. Tento dynamický mechanismus ovlivňuje chemickou rovnováhu v půdě [11; 12].

Ionty v půdním roztoku podléhají procesu sorpce a desorpce, což znamená, že jsou schopny se vázat na půdní částice a následně se zase uvolňovat zpět do roztoku. Tato dvoustupňová interakce mezi ionty a půdním substrátem je důležitým prvkem půdní chemie a ovlivňuje dostupnost živin pro rostliny. Sorpce zahrnuje připojení iontů k povrchu půdních částic nebo koloidů, což může být způsobeno elektrostatickými nebo chemickými interakcemi. Naopak, desorpce je proces, kdy se ionty uvolňují z půdních částic a opět se stávají součástí půdního roztoku. Tento cyklus sorpce a desorpce je klíčový pro transport a dostupnost iontů v půdním prostředí [11].

V půdním prostředí probíhá dynamický proces uvolňování plynů, zahrnující metabolity půdních organismů. Tyto plyny vznikají v půdě, kde se postupně uvolňují do půdního vzduchu, a nakonec unikají do atmosféry. Tento složitý proces zahrnuje produkci různých plynů, jako jsou oxidy dusíku, oxidy uhličité, metan a další látky vytvořené při metabolických procesech půdní mikrobiální komunity. Tyto plyny mohou vznikat v důsledku rozkladu organických látek, anaerobního nebo aerobního dýchání mikroorganismů a dalších biologických aktivit v půdním ekosystému. Uvolněné plyny mají následně vliv na chemické složení půdního vzduchu a mohou ovlivňovat kvalitu ovzduší, protože se nakonec dostávají do atmosféry. V půdním roztoku dochází k procesu rozpuštění plynů, což znamená, že se plynné látky promíchávají s kapalným prostředím půdního roztoku. Tento proces umožňuje, aby různé plyny, jako jsou například kyslík, dusík nebo oxid uhličitý, vstoupily do půdního roztoku a byly v něm rozptýleny. Tím se otevírá možnost pro interakce mezi plyny a rozpuštěnými látkami v půdním prostředí [4; 11].

Rozpuštěné látky v půdním roztoku se pohybují půdou a mohou být vymývány, zatímco při převládajícím odpařování vody z povrchu půdy dochází k translokaci minerálů a látek z hlubších vrstev směrem k povrchu půdy. Tento proces má zásadní dopad na pohyb živin a minerálů v půdním prostředí. Tento dynamický mechanismus má významný dopad na pohyb živin v půdním prostředí. Pokud je voda odpařována z povrchu půdy, minerály a rozpuštěné látky se mohou pohybovat směrem nahoru, což může ovlivnit dostupnost živin pro rostliny.

Zároveň mohou rozpuštěné látky být odplaveny vodními toky, což ovlivňuje chemickou dynamiku půdy a životní prostředí v širším měřítku [4].

Rozpuštěná organická hmota, tvořená z rozkladu rostlinných a živočišných zbytků, je neustále předmětem interakcí a transformací. Při výměně organické hmoty dochází k procesu, kdy různé organické sloučeniny komunikují a předávají se mezi půdními mikroorganismy, rostlinami a dalšími složkami půdního ekosystému. Tento proces je klíčový pro životaschopnost půdy, jelikož podporuje mikrobiální aktivitu a zajišťuje dostupnost živin pro rostliny [13].



Obrázek 3: Schématický diagram klíčových procesů v půdním roztoku [12]

2.3 Rozpuštěná organická hmota (DOM)

Půdní organická hmota (SOM) představuje klíčový ukazatel pro hodnocení kvality a celkového zdraví půdy, a její charakteristika se stává důležitým aspektem v oblasti půdní vědy. Celková organická hmota v suchozemském i vodním prostředí se dělí do dvou hlavních frakcí, a to rozpuštěné organické hmoty (DOM) a částicové organické hmoty (POM). Částicová organická hmota zahrnuje frakci organické hmoty skládající se z částic, které neprojdou 0,45 µm filtrem. Naopak, DOM je definována jako frakce organické hmoty v roztoku procházející 0,45 µm filtrem. Termín rozpuštěný organický uhlík (DOC) označuje celkový obsah organického uhlíku v roztoku, který opět prochází 0,45 µm filtrem. Vzhledem k tomu, že uhlík představuje většinu elementárního složení organické hmoty (> 50 %), DOM se často kvantifikuje podle obsahu uhlíku, což přináší koncept DOC do popředí diskusí v oblasti půdního výzkumu a hodnocení půdních vlastností [10].

Rozpuštěná organická hmota tvoří méně než 2 % celkového obsahu SOM a lze rozdělit do dvou skupin, a to na látky, které jsou skutečně rozpuštěné v půdním roztoku, a ty, které se

nachází v koloidní formě. Molekuly, které jsou lokalizovány v makropórech půdy, jsou považovány za tzv. labilní DOM, protože jsou náchylné k rychlému rozkladu mikroorganismy. Labilní DOM je tvořena převážně z jednoduchých sacharidů, proteinů a organických kyselin s nízkou molekulovou hmotností. Naopak tzv. stabilní DOM zahrnuje sloučeniny obsažené v mikropórech, což naznačuje, že tyto látky mají menší průměr. Tato stabilní forma DOM obsahuje zapouzdřené sloučeniny, které jsou chráněny před mikrobiální degradací, což jim umožňuje přetrvat v půdě po delší dobu, dokonce i po desetiletí [10; 14].

Převážná část DOM v půdách je produktem solubilizace organické hmoty ve vegetaci, a to zejména při významném příspěvku biologických odpadních materiálů. Tyto materiály mají schopnost buď působit jako zdroj DOM nebo zlepšovat proces solubilizace POM. Většina biologických odpadních materiálů, zejména těch pocházejících z organismů rostlinného původu, obsahuje významné množství DOM. Přidáním organických hnojiv může docházet ke zvýšení pH půdy, což následně podporuje efektivnější solubilizaci půdní organické hmoty. Tento proces má vliv na vývoj půdního prostředí a může ovlivňovat dostupnost živin pro rostliny. Je třeba zdůraznit, že zlepšení solubilizace SOM hraje klíčovou roli v udržitelném půdním hospodaření a v cyklech živin [10; 14].

2.3.1 Výskyt DOM

V půdách je většina DOM koncentrována ve svrchních vrstvách půdy (horizont A), kde tvoří oxidativně změněné, ve vodě rozpustné meziprodukty mikrobiálního rozkladu rostlinných zbytků, živočišných tkání a exkrementů. Kromě toho, sem patří exopolysacharidy uvolňované mikroorganismy, produkty buněčné lýzy bakterií a hub. Organické rostlinné exsudáty rovněž představují významné zdroje rozpuštěných organických molekul. Dalšími zdroji DOM jsou hnojiva, komposty, čistírenské kaly či ponechání posklizňových zbytků. Rozpuštěná organická hmota může také vstoupit do půdy s dešťovou vodou a v menší míře s deštěm, který splachuje organické látky z listů. Přítomnost organického uhlíku v hlubších půdních horizontech (B a C) vychází z vyplavování molekul DOM z horizontu A, rozkladu kořenů rostlin a kapilárního vzestupu organických látek, které jsou rozpuštěny v roztocích cirkulujících v půdě. Na obrázku 4 jsou znázorněny cesty vstupů a výstupů rozpuštěné organické hmoty [8; 10].



Obrázek 4: Cesty vstupů (humifikace, rozklad rostlinných zbytků a mikrobiální lýza, kořenové exsudáty) a výstupů (boční proudění, vyplavování, sorpce) rozpuštěné organické hmoty [10]

2.3.2 Složení DOM

Chemické složení DOM závisí na jeho původu, avšak mezi hlavní prvky se řadí uhlík, kyslík, vodík, dusík, fosfor, síra a různé ionty. I přes skutečnost, že DOM obsahuje pouze šest hlavních prvků, tak tvoří rozmanitou směs organických látek s různou konfigurací a prostorovým uspořádáním. Rozpuštěná organická hmota zahrnuje látky s různými molekulovými velikostmi, od několika stovek po více než 100 kDa. Rozpuštěnou organickou hmotu lze rozdělit na látky humifikované a nehumifikované. Je však třeba poznamenat, že hranice mezi těmito dvěma skupinami není ostrá [14].

Nehumifikované látky

Nehumifikované látky zahrnují sloučeniny patřící do známých tříd, jako jsou sacharidy, lipidy a aminokyseliny. Další látky obsažené v DOM mohou být karboxylové kyseliny, fenoly nebo další organické sloučeniny. Tyto látky představují buď nerozložené, nebo částečně rozložené pozůstatky rostlin, živočichů nebo organických hnojiv, které nebyly podrobeny procesům, jež by je převedly na huminové látky (HL) [15].

Sacharidy, nacházející se v půdě, představují 5–25 % celkové organické hmoty ve většině půd. Tyto sacharidy obsahují jednoduché cukry, oligosacharidy či exopolysacharidy, jež jsou produkované mikroorganismy v půdě. Bakterie a houby hrají významnou roli v rozkladu hemicelulózy a celulózy, ze kterých si následně vytvářející své vlastní sacharidy. Sacharidy v půdě nesou různorodé vlastnosti, například schopnost polysacharidů vázat anorganické částice do stabilních agregátů nebo slouží jako stavební materiál pro vytváření HL. Některé

cukry mohou podporovat procesy klíčení a růstu kořenů rostlin, zatímco jiné mohou sloužit jako zásobárny energie pro mikroorganismy v půdě [8].

Lipidy představují skupinu organických molekul, které jsou charakteristické svou hydrofobní povahou. I přesto, že jsou lipidy obecně málo rozpustné ve vodě, mohou tvořit malou část DOM, zejména nasycené mastné kyseliny s krátkým řetězcem. Existují různé druhy lipidů, přičemž některé mohou inhibovat růst rostlin, zatímco jiné mohou působit jako růstové hormony. Významným aspektem lipidů je i jejich role jako zdroje uhlíku a energie pro mikroorganismy v půdním prostředí [8; 16].

Aminokyseliny obsažené v půdním roztoku jsou označovány jako volné aminokyseliny a jejich obsah v půdě je velmi proměnlivý. Mezi tyto aminokyseliny patří především asparagin, glutamin, alanin a kyselina glutamová a asparagová, které mohou sloužit jako zdroj dusíku pro rostliny a živočichy. L-aminokyseliny jsou dominantní, neboť vznikají rozkladem živých organismů, naopak D-aminokyseliny pocházejí z mikrobiální biomasy, exkrementů a pesticidů. Aminokyseliny hrají klíčovou roli jako stavební bloky pro vytváření peptidů a proteinů, a zároveň ovlivňují obranyschopnost rostlin [17].

Humifikované látky

Humifikované látky zahrnují huminové látky, které jsou klasifikovány na tři základní frakce podle jejich acidobazické rozpustnosti, a to fulvinové kyseliny (FK), huminové kyseliny (HK) a humin. Humin, s výraznou tmavou až černou barvou, projevuje nerozpustnost v kyselinách i v zásadách, což lze vysvětlit jeho pevným spojením s minerální složkou půdy. Huminové kyseliny vykazují tmavě hnědou až černou barvu a jejich rozpustnost se pohybuje při vyšších hodnotách pH. Při kyselém pH jsou nerozpustné, avšak ve vodě projevují omezenou rozpustnost, jejíž míra závisí na struktuře a složení HK, pH a iontové síle. Fulvinové kyseliny mají světle žlutou až žlutohnědou barvu a jsou rozpustné za všech podmínek pH. Díky této schopnosti se fulvinové kyseliny stávají hojnou a klíčovou složkou rozpuštěné organické hmoty v půdním roztoku. Jejich rozpustnost ve vodě při různých pH hraje významnou roli v cyklech živin a dostupnosti živin pro rostliny a další půdní organismy [18].

Fulvinové kyseliny jsou složené z aromatických stavebních jednotek bohatě substituovaných kyslík obsahujícími funkčními skupinami, jako jsou karboxylové a fenolické skupiny. Jejich složení je však variabilní. Díky malé velikosti, nízké molekulové hmotnosti (500–2000 Da) a vysoké rozpustnosti molekul vykazují FK vysokou mobilitu v půdním profilu, což hraje klíčovou roli ve výživě rostlin a dostupnosti výživových prvků pro různé půdní organismy. Fulvinové kyseliny jsou velmi reaktivní z důvodu velkého množství karboxylových a hydroxylových skupin a mají tak vysokou kationtovou výměnnou kapacitu. Na rozdíl od HK, fulvinové kyseliny neobsahují žádné methoxy skupiny, mají nižší obsah uhlíku a dusíku, jsou méně aromatické a mají nižší obsah fenolů a chinoidních struktur. Na obrázku 5 je znázorněna struktura FK podle Stellink [10; 18].



Obrázek 5: Struktura FK podle Stellink (1997) [19]

Huminové kyseliny se skládají z alifatických řetězců a aromatických cyklů, na něž jsou připojeny různé funkční skupiny, včetně karboxylových, fenolických a chinolových. Vlastnosti HK, jako je rozpustnost ve vodě, schopnost agregace a disociace, nábojové poměry či schopnost vytvářet komplexy s kovovými ionty, souvisí s jejich složením, které je ovlivněno humifikačními procesy. Struktura huminových kyselin je velmi různorodá a dosud nebyla přesně stanovena, avšak v literatuře existuje mnoho pokusů o rozluštění této struktury a formulaci obecného vzorce pro huminové kyseliny. Molekulární struktura huminových kyselin, jak ji představil Stevenson, je znázorněna na obrázku 6 [20].



Obrázek 6: Struktura HK podle Stevensona [15]

Porozumění rozpustnosti HK je klíčové pro pochopení jejich chování v půdě, a tedy při zkoumání vzájemných interakcí. Přítomnost disociovatelných funkčních skupin v molekulární struktuře HK způsobuje, že tyto kyseliny vykazují vlastnosti polyelektrolytů, což znamená, že silně kyselé funkční skupiny mohou disociovat úplně, zatímco slabě kyselé funkční skupiny disociují pouze do určitého stupně. Tato disociace ovlivňuje chování HK tak, že jsou částečně rozpustné v půdním roztoku a mají schopnost interagovat s dalšími látkami. Rozpustnost HK ovlivňuje pH prostředí, iontová síla, přítomnost elektrolytů a další faktory. Studium těchto

parametrů přispívá k detailnějšímu pohledu na chování huminových kyselin a jejich roli v ekosystému [8; 21].

V půdě se nachází jen malé množství HL ve volné formě, většina z nich je vázána na minerální složky půdy a tvoří tak organominerální komplex. Tyto komplexy HL mohou vytvářet různé spojení s dalšími látkami, jako jsou soli nízkomolekulárních organických kyselin, například šťavelan, laktát, acetát, nebo soli HL v kombinaci s alkalickými kationty, což vede k vytvoření humátu a fulvátu. Tyto látky vznikají procesem kationtové výměny, kdy hydrogenový kationt z karboxylové skupiny HL je nahrazen alkalickým kationtem z odpovídajícího hydroxidu. Další organominerální komplex může vzniknout, pokud se HL váže na kovové ionty, což vede k tvorbě chelátu. Existují také komplexy HL, které se vážou na povrchy jílových minerálů [8].

2.3.3 Reakce DOM

Rozpuštěná organická hmota představuje nejmobilnější a nejaktivněji část organické hmoty, ovlivňující širokou škálu procesů jak ve vodním, tak i v suchozemském prostředí. Také je DOM pravděpodobně biologicky nejdostupnější frakcí půdní organické hmoty, protože všechny procesy mikrobiálního zpracování vyžadují přítomnost vody. Zásoba DOM v půdách je výsledkem různých biogeochemických procesů, které udržují rovnováhu mezi vstupem a výstupem organického uhlíku v půdě. Tyto biologické, chemické a fyzikální procesy jsou ovlivňovány biotickými a abiotickými faktory viz kapitola 2.3.4 [10].

Rozpuštěná organická hmota v půdě podléhá různým chemickým procesům, jako jsou sorpce, tvorba komplexů či fotodegradace a biodegradace. Reakce DOM s kovovými ionty může vést k vytváření různých typů komplexů, jak rozpustných, tak nerozpustných, což má vliv na pohyb a rozklad organické hmoty. Tato interakce DOM s kovovými ionty má vliv na biologickou dostupnost a pohyb, přičemž DOM může při svém postupu půdním profilem interagovat s povrchy kovových oxidů, což funguje jako ochrana před mikrobiálním rozkladem. Například v kyselých půdách mohou hliník a železo vytvářet stabilní komplexní struktury s DOM, zvyšující jejich rozpustnost a mobilitu. Vytváření stabilních komplexů s potenciálně toxickými kovy, jako jsou měď, rtuť a olovo, může modifikovat jejich toxicitu. Organominerální interakce zahrnují silné výměny ligandů až po slabší aniontoměnné reakce a významně ovlivňují mobilizaci živin, strukturu půdních agregátů a celkovou biodostupnost (10; 14].

Sorpce způsobuje, že se DOM váže na minerály v půdě, a tak dochází ke snížení její pohyblivosti a zpomalení rozkladu. Lze předpokládat, že látky s nízkou molekulovou hmotností, nízkým obsahem organického dusíku, kyselými skupinami a aromatickými strukturami zůstanou rozpustné v půdním roztoku. Naopak složky s vysokým obsahem organického dusíku, kyselými skupinami a výraznou aromaticitou budou spíše sorbovány. Tato sorpce DOM v půdách roste s narůstajícím obsahem oxidů železa a hliníku, ale klesá s rostoucí koncentrací organické hmoty. Rozpustný organický uhlík představuje pro anaerobní půdní

organismy snadno dostupný zdroj uhlíku. Tímto způsobem může stimulovat proces denitrifikace, kdy dochází k návratu dusičnanů do atmosféry [10].

Mezi další procesy odehrávající se v půdním roztoku, které ovlivňují dynamiku DOM, se řadí fotodegradace a biodegradace. Biodegradace DOM představuje proces, během kterého mikroorganismy přeměňují rozpuštěné organické sloučeniny na jednodušší formy, které používají jako svůj zdroj potravy a energie. Zásadním faktorem pro biodegradaci je schopnost mikroorganismů interagovat s DOM. Tato schopnost může být omezena, pokud je DOM umístěna v malých pórech nebo v půdních agregátech, což znemožňuje mikroorganismům přístup. Vlastnosti DOM, které obvykle zvyšují biologickou odbouratelnost, zahrnují vysoký obsah sacharidů, organických kyselin a proteinů, které mají hydrofilní povahu. Naopak, přítomnost aromatických a hydrofobních struktur snižuje schopnost mikrobiálního rozkladu DOM. Mikrobiální degradace DOM může také zahrnovat produkci plynů, jako jsou CO₂, CH₄ a N₂O, a současně snižovat obsah kyslíku v půdě. Vlivem kovových iontů může dojít k zvýšené degradovatelnosti, což je spojeno s flokulací a lepším uchycením mikrobiálních kolonií na větších strukturách. Celkově je degradace závislá na mikrobiální aktivitě, složení a hustotě mikrobiální populace a také na specifickém složení DOM [10; 22].

Fotodegradace hraje klíčovou roli v ovlivňování chování DOM, její význam může být zvýrazněn zejména v půdách s vysokou vlhkostí nebo v oblastech náchylných k zaplavování. K fotolýze dochází, pokud molekula absorbuje světlo a následně podstoupí reakci ve svém excitovaném stavu. Chemická aktivita není vázána pouze na molekulu, která absorbuje světlo, protože excitační energie může být předána i na molekuly, které původně světlo neabsorbovaly, a ty pak podstoupí chemické změny. To znamená, že látka, jež absorbuje světlo, může přenést tuto energii na jinou látku, která světlo neabsorbuje, a tím vytvořit reaktivní meziprodukt. Rozsah a rychlost fotolýzy jsou ovlivněny rozpouštědlem, zejména pokud se zapojí do probíhající fotochemické reakce. Dále struktura vazby v molekule má významný vliv na její prostorovou konfiguraci, a tím i na její fotochemickou a biologickou aktivitu. Mezi faktory ovlivňující fotolýzu patří velikost půdních částic, minerální složení, obsah vlhkosti, vlastnosti světla a pH. Rychlost půdní fotolýzy také ovlivňuje obsah přechodných kovů, obsah půdního pigmentu a vlhkost půdy. Fotolýza může nastat při rozkladu pesticidů, kdy dochází k excitaci molekul pomocí absorpce světelné energie. Tato excitace může vést k různým organickým reakcím nebo vytváření reaktivních forem kyslíku, který dále oxiduje funkční skupiny v molekule pesticidu. Fotooxidace může způsobit změny v cyklu DOM, přeměnit labilní složky na odolnější, což znamená méně biologicky dostupné. Naopak fotooxidace a fotoštěpení mohou uvolnit biologicky dostupné sloučeniny, které stimulují aktivitu mikroorganismů. Fotodegradace může také snížit schopnost DOM vázat kovy, což ovlivní chemickou specifičnost kovů a modifikuje tak mobilitu nebo schopnost DOM adsorbovat kovy. Za určitých podmínek mohou FK a HK generovat singletový kyslík v malých koncentracích a podstoupit tak fotochemické reakce [23; 24].

2.3.4 Faktory ovlivňující obsah DOM

Kolísání DOM v půdách je ovlivněno několika souběžně probíhajícími procesy a řadou faktorů, jako jsou klimatické podmínky, množství atmosférických srážek, kyselé srážky, a také pH

půdy, textura, obsah organické hmoty a biodiverzita mikroorganismů. Důležitou roli v utváření charakteru DOM hraje enzymatická aktivita mikroorganismů, která je závislá na zmíněných faktorech. Ovlivnění koncentrace DOM mohou také vyvolat antropogenní vlivy, například urbanizace, kácení lesů, požáry a odvodňování mokřadů. Změny v prostředí způsobené lidskou činností, jako jsou zemědělské přístupy, střídání plodin, aplikace hnojiv a vápna, mají významný dopad na kvalitu půdy. Pochopení vlivu klíčových enviromentálních faktorů je nezbytné pro odhad dynamiky a reaktivity DOM v půdním prostředí [14].

Klimatické podmínky jsou hybné síly ovlivňující vznik a pohyb DOM v půdě. Právě změny v klimatu, jako jsou srážky a změny teploty, mají vliv na půdní prostředí, mikrobiální společenstvo a ve výsledku na složení DOM v půdních roztocích. Při vyšších teplotách mohou srážky během sucha zlepšit dýchání půdních mikroorganismů, a tím podpořit jejich aktivitu a následně tedy zvýšit biomasu. Sezónní změny v obsahu vody a teploty ovlivňují rozpustnost organických složek, mikrobiální aktivitu a rychlost uvolňování látek. Koncentrace organických sloučenin v půdním roztoku se mohou proto rychle měnit. Dlouhodobé období srážek a vyšší hladiny podzemní vody urychlují odplavování a transport organických molekul v půdním profilu, zatímco suché období tyto procesy zpomaluje. Vyšší vlhkost půdy a teplota ovlivňují mikrobiální aktivity, což má za důsledek vyšší rychlost rozkladu organické hmoty a humifikaci [10].

2.4 Lyzimetrie

Existují dva základní přístupy k odběru vzorků půdního roztoku, a to metoda prováděná mimo daný prostor (ex situ) a metoda prováděná přímo na místě (in situ). Oba tyto postupy slouží ke shromáždění vzorků půdního roztoku pro následnou analýzu. Při ex situ metodách se půdní vzorky přesunou z pole do laboratoře před samotným získáním půdního roztoku. Existuje několik laboratorních postupů pro extrakci půdního roztoku a tato metoda závisí na použitých extrakčních činidlech. Tato metoda však nese několik nevýhod, včetně nedostatečné selektivity, sorpce a redistribuce kovů solubilizovaných během extrakce. Také mohou nastat změny během přípravy a skladování vzorku. Navzdory těmto nedostatkům jsou tyto metody využívány k zaměření se na specifické chemické složky v půdě nebo prvky, které jsou vázány nebo spojeny s konkrétními půdními fázemi nebo sloučeninami. Při metodách in situ se půdní roztok sbírá přímo na místě a poté se analyzuje v laboratoři. Oproti metodám ex situ jsou tyto přístupy méně destruktivní a umožňují také opakované odběry vzorků ze stejné lokality. Na rozdíl od ex situ metod, in situ metody nezasahují do přirozené struktury nebo složení půdy během procesu odběru vzorků. Všechny tyto metody in situ spadají pod obecný termín lyzimetrie, což zahrnuje různé typy zařízení lyzimetrů, které mohou nebo nemusí při shromažďování půdního roztoku využívat napětí. Lyzimetry s nulovým napětím zachytávají pouze nasycený nebo makropórový tok, který odtéká půdou díky gravitaci. Naopak, tenzní lyzimetry zachytávají jak volně odtékající vodu, tak kapilární vodu. Tato kapilární voda tvoří hlavní zdroj vody pro rostliny a představuje biologicky dostupné místo pro příjímání prvků [25; 26].

Lyzimetry jsou tedy zařízení, která slouží k měření průsaku vody půdou, k určení bilance živin a koncentrace rozpuštěných látek v půdním roztoku, na základě zachycení tohoto půdního roztoku. V oblasti hydrologie hrají lyzimetry klíčovou roli při měření průsaku vody pod kořenovou zónou rostlin a monitorování spotřeby vody během odpařování z vegetace. Tyto zařízení jsou také užitečná pro sledování akumulace vody v půdě způsobené srážkami nebo zavlažováním. Zemědělci lyzimetry využívají nejen k monitorování obsahu hnojiva v půdě, ale i k průběžnému sledování obsahu živin a solí v půdě, což přispívá k efektivnějšímu hospodaření s hnojivy a vodními a půdními zdroji. Například perkolační lyzimetry jsou typicky sestaveny z nádrže, která je umístěna do stěny pracovní jámy tak, aby nepoškodila strukturu půdy nad ní. Nad nádržemi proniká srážková voda, která je poté odváděna hadicí do sběrné nádoby, kde se hromadí. Sběrné nádoby jsou umístěny v oddělené šachtě, od pracovní jámy. Po instalaci lyzimetru je pracovní jáma zasypána a ze sběrných nádob v šachtě jsou pravidelně odebírány vzorky zachycené vody. Základní vlastností lyzimetru je nutnost použití porézního materiálu na rozhraní. Tento porézní materiál musí mít hydrofilní povrch s četnými póry, které umožňují transport půdního roztoku bez výrazných změn [11; 27].

2.5 Metody charakterizující půdní roztok

Charakterizace půdního roztoku je nezbytným krokem v porozumění jeho složení, vlastností a vlivu na různé procesy v půdním prostředí. Metody, které se využívají k charakterizaci půdního roztoku, zahrnují například UV/Vis, FTIR a fluorescenční spektrometrii, dále dynamický rozptyl světla, ICP-OES a ICP-MS. Tato rozmanitost analytických přístupů nám umožňuje nejen identifikovat chemické složky v půdním roztoku, ale i sledovat změny v jeho kompozici a dynamice v průběhu času [28].

2.5.1 UV/Vis spektrometrie

UV/Vis spektrometrie se často využívá pro charakterizaci huminových látek a rozpuštěné organické hmoty, jelikož představuje rychlou, relativně nenáročnou a dobře prostudovanou analytickou metodu. Absorbance v ultrafialové a viditelné oblasti spektra je ovlivněna několika charakteristikami těchto látek. Například zvyšuje se absorbance s celkovým obsahem uhlíku nebo s počtem aromatických kruhů v molekule. Výsledný tvar absorpčního spektra, jakož i samotné absorpční pásy mohou také ovlivnit vibrace a rotace molekul, stejně jako interakce mezi molekulami. Studium těchto interakcí a vlastností UV/Vis spektra poskytuje cenné informace pro lepší porozumění chemické povahy huminových látek a DOM ve zkoumaném prostředí [29; 30].

Informace o DOM a HL jsou získávány prostřednictvím poměru absorbancí při konkrétních vlnových délkách. Tyto poměry jsou známy jako absorpční koeficienty. V oblasti viditelného světla je specifickým ukazatelem tzv. humifikační index, který je definován jako poměr E₄/E₆. Tento index vyjadřuje poměr absorbancí při 465 nm a při 665 nm. Nižší hodnoty humifikačního indexu naznačují vyšší míru kondenzace molekul a snížený obsah alifatických řetězců. Vyšší hodnoty humifikačního indexu mohou signalizovat přítomnost kyslík obsahujících funkčních skupin a zároveň naznačovat nižší molekulovou hmotnost. Nicméně je zapotřebí zdůraznit, že tento koeficient je významně senzitivní k hodnotě pH prostředí, a tudíž by tento ukazatel měl být vždy počítán z UV/Vis spekter pufrovaných roztoků [30; 31].

Dalším absorpčním koeficientem je E_2/E_3 , což je hodnota získaná poměrem absorbance při 250 nm při 365 nm. Tato hodnota je často využívána jako indikátor humifikace a molekulové

hmotnosti huminových látek. Nižší hodnoty tohoto poměru naznačují přítomnost struktur s vyšší molekulovou hmotností, vyšší aromaticitou a vyšším stupněm humifikace [29].

Absorpční koeficient E_{ET}/E_{BZ} je definován jako poměr absorbance při 253 nm, což odpovídá oblasti přenosu elektronů, a 203 nm, který představuje pás benzenoidních struktur. Tento specifický absorpční koeficient odráží přítomnost polárních substituentů na aromatickém jádře, což umožňuje posoudit charakter substituentu v molekulové struktuře. Nízké hodnoty tohoto absorpčního koeficientu značí nesubstituovaný benzen a zvýšením hodnoty E_{ET}/E_{BZ} dochází k substituci hydroxylovými, karboxylovými, karbonylovými a esterovými skupinami [31].

Další informace o struktuře rozpuštěné organické hmoty DOM lze získat prostřednictvím konkrétních absorpčních hodnot, jež jsou normalizovány podle celkové koncentrace organického uhlíku. Jako příklad lze uvést SUVA₂₅₄, což je poměr absorpce při 254 nm, kde aromatické sloučeniny absorbují UV záření, vůči celkovému obsahu organického uhlíku ve vzorku. SUVA₂₅₄ tak poskytuje informace o aromatickém charakteru DOM [32; 33].

2.5.2 Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací

Navzdory složité struktuře HL a DOM, pozorujeme v jejich infračervených spektrech řadu absorpčních pásů, které jsou charakteristické pro specifické molekulární struktury. Metoda infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací (FTIR) je schopna poskytnout klíčové informace týkající se povahy HL a DOM, reaktivity, prostorového uspořádání kyslíkatých funkčních skupin, podílu sacharidických a proteinových složek, a také obsahu vázaných anorganických příměsí, jako jsou jílové minerály a ionty kovů. FTIR spektrometrie se tak stává klíčovou metodou pro strukturní charakterizaci a pochopení povahy huminových látek a rozpuštěné organické hmoty [34].

V infračervených spektrech HL a DOM lze identifikovat a přiřadit některé absorpční pásy ve FTIR spektrech konkrétním funkčním skupinám. Rozsáhlý absorpční pás v oblasti 3400-3300 cm⁻¹ odhaluje valenční vibrace hydroxylových skupin fenolů. Pokud by se jednalo o izolovanou hydroxylovou skupinu, její absorpce by byla pozorována při vlnočtu kolem 3600 cm⁻¹. Nižší vlnočty naznačují, že hydroxylové skupiny v molekulách huminových látek a rozpuštěné organické hmoty tvoří vodíkové můstky, a to jak uvnitř molekul, tak i intermolekulárně. Tento široký pás, signalizující vodíkové můstky, ztěžuje přesnou identifikaci absorpčního pásu při 3030 cm⁻¹, který je charakteristický pro valenční vibrace aromatických vazeb C-H. Intenzita tohoto absorpčního pásu je výraznější, čím méně je aromatický kruh substituován. Při zvýšeném počtu substitucí na aromatickém jádře pak intenzita tohoto pásu výrazně klesá. Pokud tedy tento pás, charakterizující valenční vibrace aromatických vazeb C-H, zcela chybí, může to znamenat kompletní substituci aromatického kruhu nebo překrytí silným pásem vibrací O-H. Toto překrytí může nastat v důsledku obsahu vodíkových vazeb v karboxylových skupinách, což by mohlo vést k rozšíření absorpčního pásu až do oblasti 2900 cm⁻¹. Absence tohoto pásu může být způsobena několika faktory, přičemž jeden z nich je interferenční vliv absorpčního pásu vody [34; 35].

Absorpční pásy v rozmezí $2900-2800 \text{ cm}^{-1}$, které jsou přisuzovány alifatickým funkčním skupinám, představují variabilní a významný prvek infračerveného spektra.

V případě methylovaných a acetylovaných organických sloučenin zaznamenáváme zvýšenou intenzitu absorpce. Toto zvýšení lze vysvětlit přítomností methylových (–CH₃) a ethylových (–CH₂–CH₃) skupin v molekulární struktuře [35].

Kyslíkaté funkční skupiny zaujímají oblast infračerveného spektra v rozmezí vlnočtů 1900– 1500 cm⁻¹ a zahrnují karbonylové skupiny, anhydridy, karboxylové kyseliny, estery a soli karboxylových kyselin. Výrazný a jasně vymezený pás při vlnové délce 1720 cm⁻¹, který odpovídá valenční vibraci C=O v karboxylových skupinách, je nejvýraznějším prvkem infračervených spekter HL. Je třeba poznamenat, že tento pás může být potlačen v přítomnosti solí těchto kyselin. Poloha tohoto maxima může vykazovat variabilitu v závislosti na konjugacích, substituentech kolem karboxylové skupiny a charakteru vodíkových vazeb [35].

Pokud jsou zaznamenány absorpční pásy při 1650 cm^{-1} a 1550 cm^{-1} , signalizuje to přítomnost dusíku. Tyto charakteristické pásy jsou spojené s valenčními vibracemi sekundárních amidů nebo deformačními vibracemi N–H v –NH₂ skupinách aminokyselin. Vzhledem k interakci s intenzivnějšími pásy karbonylů nebo dvojných vazeb C=C se tento absorpční pás stává kombinovaným a jeho maximální hodnota se přesouvá nad 1650 cm⁻¹. Tento jev je důležitý pro identifikaci a interpretaci chemických struktur obsahujících dusík [35].

Jeden z nejvýraznějších pásů je absorpční pás v oblasti 1610–1625 cm⁻¹, který je spojen s vibracemi vazby C=C v aromatických strukturách. Nicméně k tomuto pásu mohou přispívat i nearomatické dvojné vazby, ale také vibrace amidů a antisymetrické vibrace deprotonovaných karboxylových skupin. Silný absorpční pás, který indikuje valenční vibrace –C–OH alifatických alkoholů, dosahuje svého maxima v rozmezí vlnočtů 1150–1050 cm⁻¹. V oblasti 1040–1070 cm⁻¹ se nachází absorpční pásy, které signalizují valenční vibrace C–O v polysacharidech [35].

Valenční vibrace s vlnočtem pod 1000 cm⁻¹ vykazují nízkou intenzitu, což snižuje jejich význam při studiu struktury HL a DOM. Tyto pásy však mohou poskytovat užitečné informace o přítomnosti minerálních příměsí. Například absorpční pás v rozmezí 1100–1000 cm⁻¹ souvisí s vibrací Si–O v montmorillonitu, zatímco pásy s vlnovými délkami 935 cm⁻¹ a 910 cm⁻¹ označují H–O–Al v kaolinitu. Zaznamenaný absorpční pás při 795 cm⁻¹ je spojen s amorfní modifikací SiO₂. Obecně platí, že absorpční pásy anorganických látek v infračervených spektrech mají vyšší intenzitu než pásy organických funkčních skupin [35].

2.5.3 Fluorescenční spektrometrie

Fluorescence hraje klíčovou roli při odhalování charakteristik DOM, poskytující informace o její struktuře, přítomnosti elektron–donorních a elektron–akceptorních funkčních skupin, a také o stupni humifikace. Tyto důležité vlastnosti jsou detailně analyzovány prostřednictvím ustálené fluorescenční spektrometrie. Nicméně, použitím časově rozlišené fluorescenční spektrometrie se otevírají nové možnosti pro získání hlubších informací o probíhajících procesech v excitovaných stavech molekul. Sledováním dynamiky fluorescence v čase nejen identifikujeme specifické funkční skupiny, ale také monitorujeme proměny v probíhajících mechanismech dohasínání, jako je anizotropie, vliv rozpouštědla, přítomnost solitérních

fluorescenčních systémů atp. Časově rozlišená fluorescenční spektrometrie nám tak umožňuje získat podrobnější pohled na interakce mezi rozpuštěnými organickými sloučeninami a jejich okolím. Tato metodika se stává klíčovým nástrojem pro analýzu komplexních struktur DOM, přispívající k lepšímu pochopení celkové dynamiky ekosystému ve vodném prostředí [36].

V DOM lze identifikovat dva hlavní typy fluorescenčních signálů, a to huminovou fluorescenci a fluorescenci podobnou proteinům nebo aminokyselinám. S pomocí tzv. fluorescenčních koeficientů, což jsou poměry intenzit fluorescence, můžeme získat informace o charakteru HL a DOM. Charakteristickými fluorofory pro huminové látky jsou A–fulvic-like a C–humic-like. Pokud jde o fluorofory FK, tak ty jsou lokalizovány v oblasti nižších vlnových délek excitace a emise, a obvykle se vyznačují vyšší intenzitou fluorescence ve srovnání s fluorofory HK. Fluorofory FK se odlišují od fluoroforů HK tím, že vykazují vyšší obsah elektron-donorních funkčních skupin, nižší molekulovou hmotnost, nižší stupeň humifikace a nižší množství aromatických struktur s konjugovaným systémem dvojných vazeb [37].

V excitačně-emisních spektrech rozpuštěné organické hmoty se můžeme setkat s fluorescenčními doménami, které svojí povahou nespadají do rodiny fluoroforů HL, ale jsou dobrými ukazateli mikrobiální aktivity v půdním a sladkovodním prostředí. Tyto fluorescenční domény jsou souhrnně označovány jako protein-like, kam zpravidla řadíme dva jejich zástupce, a to B – tyrosin-like a T – tryptofan-like. Dále můžeme v těchto spektrech pozorovat i tzv. vedlejší fluorescenční maxima, odvozená od těchto hlavních signálů, která se nacházejí v oblasti vyšších či nižších vlnových délek excitace a emise. Tím se otevírají další možnosti pro detailnější analýzu složitých fluorescenčních charakteristik DOM [37].

Huminové látky a rozpuštěná organická hmota mají schopnost vytvářet komplexy s těžkými kovy a polutanty. Jednotlivá vazebná místa mají odlišné vlastnosti komplexace, a samotný rozsah a mechanismus této interakce závisí na faktorech jako je pH, iontová síla nebo povaha kovového iontu. V HL a DOM se ionty těžkých kovů především vážou na specifické funkční skupiny, které mají volný elektronový pár nebo obsahují π -vazebné elektrony. Některé přechodné kovy mohou efektivně potlačit fluorescenci ligandů HL a DOM. Naopak alkalické kovy a kovy alkalických zemin obvykle nevykazují zhášecí účinek na fluorescenci [37].

2.5.4 Dynamický rozptyl světla (DLS) a zeta potenciál

Dynamický rozptyl světla nachází uplatnění při stanovení rozměrů a polydisperzity částic v DOM. Pro dosažení tohoto cíle se využívá měření difúzního koeficientu, který je spojen s hydrodynamickým průměrem rozptylujících částic. Principem je změřit difuzivitu částic na základě jejich Brownova pohybu a následně převést tuto hodnotu na velikost částic pomocí Stokes-Einsteinova vztahu. Tímto způsobem je možné rychle a efektivně měřit rozměry částic ve vodném roztoku, a to v rozmezí od nízkých nanometrů až po malé mikrometry [38].

Fulvinové kyseliny se vyznačují menší molekulovou hmotností, která se pohybuje v rozmezí 0,5–1,5 kDa. Naopak, huminové kyseliny jsou větší s molekulovou hmotností dosahující desítek až stovek kDa a mají nižší hustotu různých funkčních skupin, jako jsou karboxylové, fenolické a ketonové. Charakter a počet těchto funkčních skupin v HK a FK je klíčovým

faktorem, který je činí vhodnými ligandy pro kovové ionty ve vodném prostředí. Obzvláště huminové kyseliny mají výrazný amfifilní charakter, což hraje klíčovou roli v procesu transportu, biologické dostupnosti a zachycení různých toxických iontů, těžkých kovů a polutantů. Díky své amfifilní povaze mají schopnost spontánně se organizovat ve vodném roztoku a vytvářet struktury připomínající micely. Tyto micelám podobné struktury jsou nazývány pseudomicely a skládají se z různých druhů molekul různých velikostí. Způsob agregace těchto struktur, nazývaný pseudomicelární agregace, je ovlivněn pH, iontovou silou, typem elektrolytu a teplotou [38].

Pokud je DOM obohacena o kovové ionty, dochází ke změnám ve velikosti agregátů. Kationty hrají klíčovou roli v tomto procesu, neboť neutralizují náboje a vnitřně propojují HK. Tím dochází ke přitahování jednotlivých částí řetězců, což způsobuje, že molekuly přecházejí do kompaktnější konfigurace. Výskyt dalších kovových iontů však nakonec vede k mezimolekulárním asociacím, což má za následek zvětšení velikosti částic. Po dosažení vyšších koncentrací pak následuje srážení. Přítomnost alkalických kovů a kovů alkalických zemin v roztoku má za následek snížení velikosti částic. Tento jev pravděpodobně vzniká v důsledku interagregátové kontrakce, kdy se agregáty zhušťují pod vlivem přidaných kationtů [39].

Vliv pH na velikost částic ve vodných roztocích je významný. Při zvýšení kyselosti dojde ke zmenšení velikosti rozpuštěných látek, což je způsobeno protonací aniontových funkčních skupin, zejména těch karboxylových. Tím dochází ke snížení odpuzování mezi negativně nabitými místy ve struktuře látek. Další zvýšení kyselosti následně vede ke spojování částic pomocí vodíkových můstků, a nakonec dochází k precipitaci. Tento děj je podporován i v přítomností kovových iontů, které neutralizují záporné náboje na ionizovaných funkčních skupinách a tím propojují molekulární řetězce [38].

Při zvyšování teploty v DOM dochází k nárůstu velikosti částic. Průměrná velikost shluků HL roste s rostoucí teplotou. Tento jev souvisí s klesající dielektrickou konstantou vody při stoupající teplotě, což vede ke snížení hydratace amfifilních huminových látek. To má za následek, že tyto látky začínají vytvářet stále větší shluky nebo agregáty. Tento proces obvykle pokračuje, ale s dalším nárůstem teploty dochází k narušení těchto shluků nebo aglomerátů v důsledku Brownova pohybu. To znamená, že i když začíná docházet k růstu velikosti částic při vyšší teplotě, nad určitým bodem dochází k opačnému efektu, kdy se shluky začínají rozpadat kvůli intenzivnějšímu tepelnému míchání [38].

Zeta potenciál se používá k posouzení, jak stabilní je koloidní disperze, a jak silné jsou interakce mezi částicemi, zda se navzájem odpuzují nebo přitahují. Jestliže se hodnota zeta potenciálu pohybuje v rozmezí –30 až 30 mV, tak částice jsou považovány za nestabilní, protože nemají dostatečný náboj k odpudivé interakci, což vede k tvorbě agregátů. Stabilita částic je dána nábojem a vzdáleností iontů v elektrické dvojvrstvě. Hodnota zeta potenciálu je nepřímo úměrná vodivosti vzorku. Hodnota pH rovněž ovlivňuje zeta potenciál, kdy destabilizace nastává při určitě hodnotě pH, pokud se dosáhne bodu nulového náboje neboli

izoelektrického bodu. Také přítomnost DOM má významný dopad na zeta potenciál a celkovou stabilitu a agregační chování částic v roztoku [40; 41].

2.5.5 Optická emisní a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) představují analytický nástroj pro kvantitativní a kvalitativní analýzu rozpuštěných anorganických látek s vysokou citlivostí a rychlostí. Tyto metody, obzvláště ICP-MS, jsou schopné detekovat i stopové množství prvků v DOM, což umožňuje detekci i nízkých koncentrací cílových látek. Dále ICP-OES i ICP-MS zahrnují široký dynamický rozsah, tudíž jsou schopné pracovat v širokém rozmezí koncentrací, což z nich činí vhodný nástroj pro analýzu vzorků s různými koncentracemi organických látek. Také obě metody umožňují analýzu více prvků současně, což je výhodné zejména při analýze komplexních organických vzorků [42; 43].

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Vybraná publikovaná studie A. Travarsa a kol. [44] byla věnována složení DOM izolované ze dvou půdních profilů luvisol na jihu a na severu Itálie. Na jihu Itálie byla odebrána jílovitá půda z farmy, kde dochází k obdělávání olivovníky, zatímco na severu Itálie se jednalo o hlinitou půdu, která byla pokryta keři. Zvolené půdní profily měly rozdílnou texturu, aby bylo možné lépe porozumět dynamice organické hmoty a stabilitě. Ve vybraných oblastech bylo odebráno několik vzorků v různých hloubkách půdních horizontů a následně byly tyto vzorky změřeny na UV/Vis, FTIR a fluorescenční spektrometrii.

Na základě výsledků spektroskopických metod lze určit obsah celkového organického uhlíku (TOC) v jednotlivých půdních profilech. Obsah celkového organického uhlíku v jílovité půdě zůstává relativně konstantní ve všech horizontech, což je dáno intenzivním a pravidelným obděláváním půdy a lidskou činností. Oproti tomu obsah TOC v hlinité půdě s hloubkou půdního horizontu výrazně klesá. Poměry E_4/E_6 a E_2/E_6 jsou spojeny s aromatickou kondenzací, úrovní agregace a obsahem fenolických skupin. Poměr E_4/E_6 je v půdním profilu nízký, což naznačuje přítomnost DOM s vysokou velikostí částic, molekulovou hmotností a stupněm humifikace, zatímco poměr E_2/E_6 klesá s hloubkou, indikující zvýšení aromatičnosti, agregace a úrovně humifikace. Postupné snižování poměru E_2/E_4 s hloubkou ukazuje na postupné vymizení jednodušších aromatických jednotek a současný výskyt více humifikovaných molekul. Humifikační index (HIX) slouží jako indikátor stáří a odolnosti DOM. Nejvyšší hodnota HIX se vyskytuje ve vrchním horizontu, což potvrzuje přítomnost komplexního organického materiálu. Avšak postupně se hodnota HIX opět zvyšuje, což naznačuje vysokou strukturní složitost organické hmoty.

Fluorescenční spektra DOM z jílovité i hlinité půdy jsou podobná pro jednotlivé horizonty, ale hodnota fluorescenční intenzity (FI) je výrazně vyšší ve vrchním horizontu. Toto naznačuje přítomnost aromatických skupin a fluorescenčních substituentů, zejména hydroxylových, methoxylových a aminoskupin v DOM ve vrchním humózním horizontu (A). Nižší hodnoty FI pro DOM indikují přítomnost organické hmoty s vyšším stupněm polykondenzace a přítomnost substituentů jako jsou karbonylové a karboxylové skupiny na molekulách s nízkou molekulovou hmotností. Fluorescenční EEM spektra DOM ze dvou profilů ukazují přítomnost dvou podobných fluoroforů s excitační/emisní vlnovou délkou, a to 305–330/401–418 nm a 265–280/330–355 nm (λ_{ex} / λ_{em}). Tyto fluorofory mohou být spojeny s aromatickými jednotkami, jako jsou jednoduché fenolické a hydroxylové deriváty kyseliny benzoové, a s jednoduchými složkami proteinového původu, jako je tryptofan a tyrosin. Tyto výsledky naznačují, že frakce DOM prokazují rostoucí molekulární heterogenitu, klesající molekulovou hmotnost, aromatickou kondenzaci a humifikaci se zvyšujícím se obsahem jemné frakce v půdě.

S. Pärnpuu a kol. [45] publikovali studii, kde se zaměřili na použití FTIR spektrometrie k měření půdní organické hmoty odebrané z široké škály estonských půdních typů. Cílem studie bylo vyhodnotit možné vztahy mezi kvantitativními a kvalitativními parametry v závislosti na půdní struktuře. Absorpční pásy při vlnočtech 2921 a 2852 cm⁻¹ indikují hydrofobní (alifatické) skupiny, zatímco pásy při 1633 cm⁻¹ označují hydrofilní (aromatické) skupiny. Ačkoli se obecně předpokládá, že jsou aromatické kruhy hydrofobní skupiny, tak

mohou vykazovat hydrofilní vlastnosti, pokud jsou v konjugaci s karbonylovými skupinami, a to zejména jako strukturní jednotky odvozených od chinonů. Poměr hydrofobních a hydrofilních skupin byl vypočten jako parametr půdní vodoodpudivosti. Index hydrofobnosti byl definován jako součet pásů při 2921 a 2852 cm⁻¹ dělený obsahem organického uhlíku. Dříve byl poměr aromatických a alifatických sloučenin použit k popisu stupně rozkladu organické hmoty v půdě. Množství vody v půdě má výrazný vliv na množství organického uhlíku v ní. Čím vyšší jsou intenzity při vlnočtech 3365 a 1633 cm⁻¹ tím vyšší je obsah organického uhlíku. To je spojeno s tím, že při zvýšené vlhkosti půdy dochází k hromadění organického uhlíku, protože anaerobní podmínky vytvořené nadměrným množstvím vody zpomalují proces rozkladu organické hmoty. Koncentrace organického uhlíku je závislá na struktuře půdy, zejména na koncentraci jílu. Absorbance při 3694 a 3617 cm⁻¹ odpovídá valenční vibraci OHskupin jílových minerálů a jsou ovlivněný především obsahem jílu. Jíl podporuje tvorbu stabilních agregátů, čímž zvyšuje ochranu agregované organické hmoty před mikrobiálním rozkladem. Uzavřený organický uhlík uložený v agregátech se zvyšuje s obsahem půdní organické hmoty a jílu. Jediný absorpční pás, který měl pozitivní korelaci s pH půdy byl při 1417 cm⁻¹, což bylo zjištěno jako obsah uhličitanu v půdě. Obecně lze pozorovat, že složení organického materiálu závisí na typu půdy, zejména na struktuře půdy a obsahu minerálů, kdy procesy rozkladu a geneze organického materiálu byly odlišné v půdách s různým obsahem minerálů.

Wen Li a kol. [46] přinesl nový pohled na trojrozměrnou fluorescenční spektroskopie s excitačně-emisní maticí (3D EEM), která je rozsáhle využívána k charakterizaci DOM. Nicméně aplikace 3D EEM je neustále omezena problémy, jako jsou rozporné identifikace složek, zmatený výklad spektrálních ukazatelů a neschopnost stanovit biodegradabilitu. V této studii byly navrženy některé zdokonalení prostřednictvím zkoumání 3D EEM, spektrálních ukazatelů a degradability standardní a reprezentativní DOM. Výsledky naznačují, že HK, FK, stejně jako protein a malé aminokyseliny, nelze přesně odlišit, proto k překonání nejasné identifikace složek DOM bylo doporučeno rozdělit 3D EEM do tří podoblastí, a to aromatický protein, huminový a rozpustný mikrobiální produkt. Následně byly pozorovány významné silné pozitivní korelace mezi fluorescenčním indexem, biologickým indexem, indexem humifikace a specifickou UV absorbancí při 254 nm (SUVA254). Kromě fluorescenčního indexu nebyly nalezeny žádné jiné spektrální ukazatele jako významně korelované s molekulovou hmotností. Na základě těchto výsledků byly fluorescenční index a index humifikace nejvhodnějšími ukazateli pro charakterizaci DOM. Poločas rozkladu ukázal, že biodegradabilita jednotlivých složek DOM byla v pořadí tyrosin (20 dní), tryptofan (21 dní), fulvinová kyselina (26 dní), protein (29 dní) a huminová kyselina (46 dní) a degradační dynamika vyhovovala modelu kinetiky prvního řádu.

Tato studie [46] objasnila fluorescenční vlastnosti a biodegradabilitu DOM, stejně jako spolehlivost spektrálních ukazatelů. Bylo zjištěno, jak efektivně se jednotlivé části DOM rozkládají a tyto zjištění tedy naznačují, že schopnost biologického rozkladu jednotlivých složek DOM má klíčový význam v rámci uhlíkového cyklu. To nejenže představuje důležitý aspekt, ale především naznačuje, že dochází k dynamické koordinaci mezi látkami, které se mineralizují a těmi, které zůstávají v organické formě. Nepochybně zůstávají 3D EEMs

ve spojení se spektrálními ukazateli, jako jsou fluorescenční index a index humifikace, užitečným nástrojem pro charakterizaci DOM a predikci jeho biologického potenciálu.

Rozpuštěná organická hmota obsahuje různě velké částice, od molekul s nízkou hmotností až po koloidní agregáty o velikosti několika stovek nanometrů. Dříve se předpokládalo, že půdní koloidy jsou především minerály vznikající zvětráváním. Tyto anorganické koloidy interagují s DOM a tvoří organominerální koloidy, které jsou klíčové pro koloběh prvků a transport znečišťujících látek. Naproti tomu informace o zdroji, vlastnostech a osudu organických koloidů DOM jsou neznámé. Studie od E. Andersson a spol. [47] zkoumá, jak se koloidní vlastnosti DOM z organického boreálního půdního horizontu, mění v závislosti na podmínkách extrakce. Cílem je lépe porozumět podstatě organických koloidů a rozšířit naše poznatky o tom, jak vznikají z půdních agregátů. Součástí postupu bylo systematické upravování extrakční teploty (4-100 °C), délky extrakce, mechanické míchání a změna pH. Následně byly využity chemické analýzy, jako je ICP-OES a ¹H NMR, a techniky jako DLS a rentgenové záření. Na základě výsledků studie, se předpokládá, že organické koloidy existují především ve dvou formách, a to jako mobilní fáze dispergovatelná v půdním roztoku a neaktivní fáze uzavřená v mikroagregátech půdy. Mechanickým mícháním dochází k uvolnění uzavřených koloidů a analýza roztoků DOM ukazuje, že chemické složení mobilních a uzavřených koloidů je podobné, avšak koncentrace nízkomolekulárních sloučenin jsou v míchaném vzorku DOM výrazně vyšší. Toto naznačuje, že nepoškozené mikroagregáty půdy obsahují také frakci nízkomolekulárních živin a při rozrušení půdních agregátů tedy dochází k vyplavování rozpustných sacharidů. Také bylo zjištěno, že při pokojové teplotě a nízkých teplotách jsou dominantní shluky s nepravidelným tvarem, zatímco při vyšších teplotách (50 °C-100 °C) se objevují spíše tzv. "koloidní spirály". Experimenty s teplotou navíc ukázaly, že při zvýšených teplotách se shluky částečně rozpouští a přechází do formy spirály. Jednoduše řečeno, tato analýza přináší nové informace o struktuře a stabilitě koloidního DOM, a jak tyto vlastnosti jsou ovlivněny procesem extrakce. Zvláště významné jsou koloidní struktury extrahované při nízkých teplotách a mírných podmínkách, které pravděpodobně hrají roli v biogeochemických procesech. Tyto struktury jsou přítomny ve volné i vázané formě, a jejich uvolňování je ovlivněno různými fyzikálně-chemickými faktory, včetně teploty, pH a fyzikálních poruch. Vodou dispergovatelné koloidy organické hmoty hrají klíčovou roli v transportu živin, kovových iontů a organických molekul, zatímco vázané koloidy v půdních agregátech mohou chránit organickou hmotu před mikrobiálním rozkladem, což přispívá k dlouhodobé stabilitě půdní organické hmoty.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité chemikálie

- šest vzorků půdního roztoku, lokalita Závišín
- kyselina sírová (výrobce Lach-Ner)
- n-amylalkohol (výrobce Penta chemicals)
- hydroxid sodný pecky p.a. (výrobce Penta chemicals)

4.2 Použité přístroje

- Analytické váhy přesnost 1 mg (Denver Instrument, Německo);
- pH metr, konduktometr (Mettler Toledo);
- UV/Vis spektrometr (Hitachi U3900H);
- ICP-OES (Horiba Scientific Jobin Yvon Ultima 2, FR);
- ICP-MS (Agilent 7900, USA);
- FTIR spektrometr (Nicolet *i*S50, Thermo Fisher Scientific);
- Spektrofluorimetr FS5 (Edinburgh Instruments);
- Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments)

4.3 Fyzikálně-chemická charakterizace

Bylo vybráno šest vzorků půdního roztoku z téže lokality. Z toho tři vzorky pocházely z prosince 2022 a zbývající tři z ledna roku 2023. Tyto tři vzorky, odebrané v jednom měsíci, se lišily v horizontech, a to konkrétně ve 40, 60 a 80 cm. Tyto vzorky půdního roztoku byly získány z půdy, která není využívána pro zemědělské účely, což znamená, že není obdělávaná a nejsou na ní vysazeny žádné plodiny. Nicméně pravidelně dochází k pokosu a odvozu píce. Jedná se tedy o trvale travní porost, který je znám jako úhor. Úhory mohou být součástí zemědělských rotací, kdy se půda střídavě obdělává a nechává ladem, aby se zachovala její kvalita. V tabulce 2 je uvedeno přehledné rozdělení a označení vzorků.

období horizont (cm)		označení vzorku
	40	UH40
prosinec	60	UH60
	80	UH80
	40	ZUH40
leden	60	ZUH60
	80	ZUH80

Tabulka 2: Označení vzorků půdního roztoku

Získané vzorky půdního roztoku z lyzimetrů byly následně ultrafiltrovány skrz filtr s velikostí pórů 0,45 μm, z důvodu odstranění nežádoucích částic, které by mohly ovlivnit následné analytické postupy. Tento krok také zabraňuje možné degradaci roztoků během jejich

skladování. Vzorky, které byly takto připraveny, byly poté analyzovány pomocí několika základních fyzikálně-chemických charakterizací. To zahrnovalo měření pH a konduktivity, využití ICP-OES, ICP-MS a dalších spektrometrických metod včetně UV/Vis, FTIR a fluorescenční spektrometrie, a také měření dynamického rozptylu světla a zeta potenciálu.

4.3.1 Měření pH a konduktivity

Pomocí pH metru bylo změřeno pH jednotlivých vzorků půdního roztoku. Význam koncentrace vodíkových iontů pro úrodnost půdy spočívá v tom, že pH ovlivňuje rozpustnost sloučenin, sílu vazeb mezi částicemi, výměnu iontů, a také aktivitu mikroorganismů. Celková reakce půdy je tak determinována přítomností a aktivitou vodíkových iontů. Ke změření vodivosti půdního roztoku byl použit konduktometr Mettler Toledo. Výsledná hodnota vodivosti poskytuje informace o koncentraci rozpuštěných minerálů a solí.

4.3.2 Optická emisní a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Koncentrace kationtů ve vzorcích půdního roztoku byla stanovena pomocí metody ICP-OES a ICP-MS. Vybrané kationty, jež byly měřeny metodou ICP-OES, jsou uvedeny společně s odpovídající vlnovou délkou v tabulce 3. Před samotným měřením byla provedena kalibrace a následně bylo nastaveno měření na přístroji Horiba Scientific Jobin Yvon. Taktéž byla provedena kalibrace na přístroji ICP-MS Agilent 7900 a bylo provedeno měření, díky němuž byla zjištěna koncentrace hlinitých iontů.

kationt	vlnová délka (nm)
Ca ²⁺	393,366
Mg^{2+}	279,553
Na ⁺	588,995
\mathbf{K}^+	766,490
Zn^{2+}	206,191
Mn^{2+}	257,610
Fe^{2+}, Fe^{3+}	259,940

Tabulka 3: Vlnové délky měřených kationtů

4.3.3 UV/Vis spektrometrie

Na základě UV/Vis spektrometrie byl změřen obsah DOM ve vzorcích půdního roztoku. Vzorky byly připraveny podle stanovené technické normy ČSN 75 7536. Postup zahrnoval přidání 5 ml kyseliny sírové a 25 ml amylalkoholu k 250 ml vzorku půdního roztoku. Následně byl tento roztok protřepán a po dobu 2 hodin docházelo k oddělení fází. Poté byl amylalkohol s obsahujícími DOM zachycen a smíchán s 25 ml 0,5 % NaOH. Po protřepání a 10 minutách oddělení fází byl získán vzorek pro UV/Vis analýzu. Totožným způsobem byl připraven i slepý vzorek. Rozdíl mezi nimi je patrný ve vrchní oddělené fázi, kde použití deionizované vody

místo půdního roztoku nezpůsobí zabarvení díky obsahu DOM. Tento rozdíl je zobrazen na obrázku 7.



Obrázek 7: Slepý vzorek (vlevo) a vzorek půdního roztoku (vpravo)

Molekulová UV/Vis spektra byla měřena pomocí Hitachi U3900H spektrometru. Vzorky byly analyzovány v rozsahu vlnových délek 200–800 nm v křemenné kyvetě s optickou dráhou 1 cm. Získaná absorpční spektra byla využita k výpočtu hmotnostní koncentrace DOM a absorpčních koeficientů, zejména se jedná o E₂/E₃, E₂/E₄, E₄/E₆, E_{ET}/E_{BZ} a SUVA₂₅₄.

4.3.4 Infračervená spektrometrie

Infračervená spektra byla získána pomocí zeslabeného úplného odrazu (ATR) měřeného pomocí spektrometru Nicolet iS50. Tato metoda si zakládá na úplném odrazu záření na fázovém rozhraní mezi měřeným vzorkem a krystalem z materiálu o vysokém indexu lomu např. diamant. Při této technice je vzorek půdního roztoku díky svým vlastnostem kapaliny v dokonalém kontaktu s ATR krystalem, což umožňuje částečné pronikání záření do analyzovaného materiálu. Jestliže vzorek absorbuje záření o určité frekvenci, pak tato složka bude v odraženém světle zeslabena. Infračervená spektra byla měřena tak, že byla nanesena kapka vzorku na ATR krystal a bylo nastaveno měření v rozmezí vlnočtů 4000–400 cm⁻¹ s rozlišením 8 cm⁻¹.

Také byly pomocí metody ATR na spektrometru Nicolet iS50 změřeny částice, které zůstaly na filtru při ultrafiltraci půdních roztoků, a to konkrétně filtry z ultrafiltrace roztoků UH40 a ZUH40. Opět bylo nastaveno měření v oblasti vlnočtů 4000–400 cm⁻¹ s rozlišením 8 cm⁻¹ a na ATR krystal byl opatrně seškrábán vytvořený filtrační koláč.

4.3.5 Fluorescenční spektrometrie

Vzorek půdního roztoku byl umístěn do křemenné kyvety a následně vložen do fluorescenčního spektrometru FS5. Zde byl vzorek vystaven záření a intenzita fluorescenčního záření, kterou vzorek emitoval, byla zaznamenána. V softwaru Fluoracle byly nastaveny parametry měření, včetně excitačního monochromátoru na 270 nm a emisního monochromátoru na 450 nm. Šířka

štěrbiny byla nastavena na 4 nm jak pro excitaci, tak pro emisi a skenovací krok byl 5 nm v případě obou monochromátorů. Excitační spektrum bylo měřeno v rozsahu 240–550 nm a emisní spektrum v rozsahu 300–600 nm. Na základě získaných spekter byl pozorován vliv změny prostředí na spektrální charakteristiky, jako je změna tvaru spektra, posun excitačního a emisního maxima a změna intenzity fluorescence.

4.3.6 Dynamický rozptyl světla a zeta potenciál

Technika DLS byla použita k určení velikosti distribuce částic v suspenzi, a také na základě korelačního koeficientu k určení polydisperzity či monodisperzity vzorku. Tato technika je citlivá na přítomnost i malých agregátů, protože intenzita rozptylu je úměrná šesté mocnině poloměru částic. Měření probíhalo pomocí přístroje Zetasizer Nano ve třech opakování, při teplotě 25 °C ve skleněné kyvetě.

Také byl ve vzorcích půdního roztoku změřen zeta potenciál. Měření je založeno na tom, že se vzorek půdního roztoku umístí do komory se dvěma elektrodami a následně je vzorek vystaven elektrickému poli. Tímto způsobem se vyvolá migrace nabitých částic směrem k odpovídající elektrodě. Pomocí laserové Dopplerovy velocimetrie je měřen zeta potenciál, který je přímo úměrný rychlosti, s jakou se nabité částice pohybují.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Na základě několika analytických metod byla provedena fyzikálně-chemická charakterizace jednotlivých vzorků půdního roztoku. Nejdříve byla změřena hodnota pH a elektrická vodivost. Poté byly využity spektrometrické metody, zahrnující UV/Vis, FTIR a fluorescenční spektrometrii. Dále byla použita ICP-OES a ICP-MS k měření koncentrace kationtů. Kromě toho byla také měřena velikost částic pomocí DLS a zeta potenciál.

5.1 pH a konduktivita

Hlavní proměnnou půdy je obvykle její pH, které má zásadní vliv na výživu a růst rostlin, a také ovlivňuje interakce v půdě, jako je například kationtová výměnná kapacita. Také pH půdního roztoku ovlivňuje množství látek, které jsou v půdním roztoku rozpustné. Rostliny mají nejlepší přístup k minerálním živinám, jestliže je pH půdy téměř neutrální. Pokud je pH nižší než 5,5, tak je půda považována za silně kyselou, což může vést k nedostatečnému růstu rostlin kvůli toxicitě hliníkem a nedostatku vápníku a hořčíku. Naopak, alkalické půdy mohou trpět nedostatkem živin, jako je zinek, měď, mangan, nebo nadbytkem sodíku, vápníku a hořčíku. Ideální rovnováha je v rozmezí pH 6,0 až 7,5, kde je většina živin pro rostliny dostupná. Toto pH je obvykle přijatelné pro většinu rostlin. V tabulce 4 lze vidět pH půdního roztoku, které je u všech roztoků považováno za přijatelné, tj. v rozmezí pH 6,0 až 7,5 [48; 49].

V tabulce 4 je zřejmé, že nejvyšší hodnota pH je vždy zaznamenána v horních vrstvách půdy (UH40 a ZUH40), a postupně se s hloubkou snižuje. Tento trend může být způsoben několika faktory. Vzorky půdního roztoku jsou odebírány v zimních měsících (prosinec, leden), tudíž dochází na základě změny teploty k ovlivnění dynamiky pH. Nižší teploty snižují aktivitu mikroorganismů a rostlin, a také je omezená dostupnost organického materiálu. Mikroorganismy a kořeny rostlin uvolňují kyselé sloučeniny, které přispívají k aciditě hlubších vrstev půdy. Kromě toho srážky a tvorba sněhu vedou k pohybu vody a rozpuštěných iontů do nižších horizontů půdy, což může způsobit, že v dolních vrstvách půdy může být vyšší koncentrace kyselých látek, které snižují pH, zatímco v horních vrstvách půdy může být vyšší pH díky menší koncentraci těchto látek. Dále v tabulce 4 je patrné, že celkově vyšší pH půdního roztoku je zaznamenáno v případě vzorků odebraných v prosinci (UH). Toto lze přičíst vyšším teplotám a tím pádem vyšší mikrobiální aktivitě a aktivitě kořenů rostlin v tomto období nebo také nižšímu vymývání.

Vodivost půdního roztoku vzniká díky přítomnosti rozpuštěných látek, které mají elektrický náboj a jsou tak schopny vést elektrický proud. V zemědělství je vodivost důležitým měřítkem salinity půdy, ale také může vodivost odhalit další vlastnosti půdy, jako půdní vlhkost nebo hloubku půdy. Mezi významné faktory, ovlivňující vodivost půdního roztoku, patří srážky, které mohou odplavovat rozpuštěné soli z půdy a tím snížit vodivost. Vodivost také rapidně klesá, pokud teplota půdního roztoku klesne pod bod mrazu, což vede ke snížení pohyblivosti iontů [50]. V tabulce 4 můžeme tedy pravděpodobně vidět skokový rozdíl vodivosti mezi jednotlivými vzorky UH a ZUH, kde v případě ZUH teplota klesla pod bod mrazu a vodivost se výrazně snížila. Dále si můžeme všimnout, že v horizontu 60 cm (UH60, ZUH60) byla

nejvyšší vodivost. To může být způsobeno akumulací organické hmoty, živin a vyšší vlhkosti v této hloubce půdy.

vzorek	рН	Vodivost (µS · cm ⁻¹)
UH40	7,42	201,2
UH60	7,35	228,1
UH80	7,31	182,8
ZUH40	7,34	142,8
ZUH60	7,25	154,7
ZUH80	7,19	122,5

Tabulka 4: Naměřená vodivost a pH jednotlivých půdních roztoků

5.2 Optická emisní a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Na základě ICP-OES a ICP-MS byl stanoven obsah kationtů obsažených ve vzorcích půdního roztoku, jejichž přehled je uveden v tabulce 5. Disociací karboxylových a fenolových skupin vzniká na povrchu DOM nebo jílovitých částicích záporný náboj, na který jsou adsorbovány kationty. Na základě výměnné kapacity mohou být adsorbované kationty zaměněny jinými kationty, přičemž jejich afinita klesá v řadě od $Ca^{2+}>Mg^{2+}>K^+>Na^+$. V půdním roztoku se také nachází cheláty, které obsahují negativně nabité skupiny a mohou tak vytvářet komplexy s kovovými ionty. Cheláty umožňují rostlinám absorbovat živiny z půdy i za nepříznivých podmínek. Reakce probíhající v půdě mají vliv na rozpustnost, mobilitu, biologickou dostupnost živin, a také na půdní strukturu. Pokud je pH neutrální nebo mírně alkalické vytváří se příznivá půdní struktura, díky převažujícím dvojmocným kationtům Ca^{2+} a Mg^{2+} . Naopak, v případě silně alkalické půdy či slabě kyselé, dochází k rozpadu půdní struktury z důvodu převahy jednomocných kationtů [51].

Z tabulky 5 je patrné, že vzorky půdního roztoku vykazují nejvyšší koncentraci vápenatých iontů, které se velmi ochotně vážou na výměnné pozice v půdním sorpčním komplexu. Vápenaté ionty následují sodné, hořečnaté a draselné ionty. Kationty železa, zinku a manganu jsou v půdním roztoku málo rozpustné, a to zejména při pH vyšším než 5. Proto při naměřených hodnotách pH nad 7 je koncentrace těchto iontů v půdním roztoku velmi nízká, a to až pod detekční limit. Stejně tak, jestliže pH půdního roztoku není kyselé, tak se Al³⁺ vyskytuje ve formě nerozpustného minerálu gibsitu a jeho koncentrace v půdním roztoku není škodlivá. Avšak jestliže pH klesá, tak se jeho obsah v půdním roztoku zvyšuje.

Obvykle dochází s rostoucí hloubkou k postupnému snižování koncentrace iontů v půdním roztoku. A to pravděpodobně v důsledku adsorpce iontů z půdního roztoku na půdní částice, jako jsou jíly, minerály a organická hmota. Z výsledků je zřejmé, že vzorek UH obsahuje vyšší koncentraci kationtů, na rozdíl od vzorků ZUH. Tento rozdíl je pravděpodobně způsoben nižší aktivitou kořenů rostlin v zimních měsících, a také možným odplavením kationtů do hlubších vrstev půdy. Tato skutečnost je v dobré kompatibilitě s výsledky vodivosti. Také je nutné zmínit, že vzorky byly odebrány během zimních měsíců, kdy probíhá cyklus mrazu a tání.

Během přechodu vodné fáze dochází ke změně půdní struktury, a to k rozbití hrubých částic a následné agregaci jemných částic. Tudíž tento proces může způsobit zvýšení obsahu rozpuštěných organických látek, a také zvýšení koncentrace iontů [52]. Z tohoto důvodu, je možné předpokládat zvýšené koncentrace kationtů Fe²⁺, Fe³⁺ a Al³⁺ v případě vzorků ZUH.

	Ca ²⁺	Mg^{2+}	Na ⁺	K +	Fe ²⁺ , Fe ³⁺	Zn ²⁺	Al ³⁺
vzorek				(mg·l ⁻¹))		
UH40	25,98	2,35	2,43	1,23	0,00	0,006	0,009
UH60	18,07	1,90	2,28	1,13	0,00	0,006	0,008
UH80	24,67	1,97	2,05	0,91	0,00	0,005	0,010
ZUH40	18,26	1,87	1,98	1,12	0,00	0,005	0,016
ZUH60	19,73	1,27	1,90	1,03	0,07	0,006	0,106
ZUH80	16,59	1,35	1,91	1,04	0,04	0,006	0,099

Tabulka 5: Obsah kationtů ve vzorcích půdního roztoku

5.3 UV/Vis spektrometrie

Měření molekulových absorpčních UV/Vis spekter vykazuje typický kvazi-exponenciální průběh, kdy s rostoucí vlnovou délkou klesá hodnota absorbance. Z obrázku 8 je patrné, že absorbance dosahuje svého maxima přibližně při 200 nm a dále se již postupně snižuje. Tudíž k největší absorbanci velkého množství chromoforů dochází v UV-B a ve vzdálené UV-C oblasti elektromagnetického záření. Na obrázku 8 jsou uvedena UV/Vis spektra extraktů půdního roztoku z odběrové hloubky 80 cm. Z průběhu UV/Vis spektra indexovaného jako N je vidět, že v průběhu záznamu spektra došlo k vytvoření opalescentního zákalu, jehož projevem je nárůst turbidity. Jinými slovy, přímým projevem nárustu turbidity je v případě měření UV/Vis spekter i nárůst základní linie tzn. baseline. Vznik zákalu je pravděpodobně způsoben tepelnými efekty mezi molekulami amylalkoholu a vody (intermolekulární interakce vodíkových vazeb), kdy při zvýšení teploty extraktu dochází k narušení termodynamické stability těchto slabých vazebných interakcí.



Obrázek 8: UV/Vis spektrum vzorku půdního roztoku ZUH80

Z naměřených hodnot absorbancí, při konkrétních vlnových délkách z UV/Vis spekter, byly následně vypočteny absorpční koeficienty, specifická absorbance SUVA₂₅₄ a DOM. Absorpční koeficienty E_2/E_3 , E_2/E_4 a E_4/E_6 poskytují informace o molekulové hmotnosti, aromaticitě a stupni humifikace organických látek. Jak je patrné v tabulce 6, tak absorpční koeficienty E_2/E_3 a E_2/E_4 klesají s hloubkou půdy, tudíž vypočtené hodnoty absorpčních koeficientů půdních roztoků v širším pohledu ukazují, že v nižších horizontech půdy se nachází více humifikovaných a komplexních organických sloučenin s vyšší molekulovou hmotností. Tento jev souvisí s tím, že hlubší části půdy mají delší dobu na akumulaci organického materiálu, který se postupně humifikuje. Humifikační index, který je znám jako absorpční koeficient E_4/E_6 dává informaci o stupni kondenzace aromatických jader, a také je známo, že hodnota humifikačního indexu klesá se střední molekulovou hmotností. Z tabulky 6 je zřejmé, že vzorek půdního roztoku v horizontu 80 cm (UH80) odebraný v prosinci obsahuje více kondenzovaných aromatických struktur na rozdíl od vzorku odebraného o měsíc později také v horizontu při 80 cm (ZUH80), který obsahuje více alifatických struktur.

Vypočtené hodnoty absorpčního koeficientu E_{ET}/E_{BZ} určují stupeň substituce polárních funkčních skupin na aromatickém jádře. Tento koeficient je nejnižší v nejnižším horizontu (UH80, ZUH80), z čehož vyplývá, že se v tomto horizontu nachází vyšší zastoupení navázaných hydrofobních skupin na aromatickém jádře. Nejvyšší hodnotu absorpčního koeficientu E_{ET}/E_{BZ} vykazoval půdní roztok odebraný v hloubce 40 cm (ZUH) a významně se liší od vzorku odebraného o měsíc dříve ze stejného horizontu. Tento vzorek půdního roztoku (ZUH40) je charakterizován vyšší mírou substituce aromatických struktur polárními funkčními skupinami.

Specifická absorbance SUVA₂₅₄ je stanovená jako poměr absorbance při 254 nm k DOC. SUVA₂₅₄ poskytuje informace o aromaticitě a tento koeficient je vhodný pro odhad

aromatického uhlíku v systému, tudíž vyšší hodnoty znamenají komplexnější struktury. V případě vzorků UH je nejméně aromatický vzorek z horizontu při 40 cm (UH40), na druhou stranu o měsíc později byl nejméně aromatický vzorek z horizontu při 60 cm (ZUH60). V tabulce 6 lze vidět posun i v případě nejvíce aromatického vzorku půdního roztoku v horizontu 60 cm (UH60) a po měsíci byl nejvíce aromatický vzorek z horizontu v 80 cm (ZUH). Pravděpodobně si lze na základě těchto výsledků povšimnout perkolace, kdy dochází k pohybu půdního roztoku směrem z horních do spodních vrstev.

V tabulce 6 je patrné, že s rostoucí hloubkou dochází k nižšímu obsahu rozpuštěné organické hmoty (DOM). Toto je pravděpodobně způsobeno tím, že v hlubších vrstvách může být méně příznivé prostředí pro růst a aktivitu mikroorganismů, které jsou zodpovědné za rozklad organického materiálu, nebo v některých případech může být v hlubších vrstvách půdy nižší přísun organického materiálu z povrchu půdy. Také se může s rostoucí hloubkou organická hmota více vázat na minerální částice, kterých obsahuje půda více. Mimo jiné může být v hlubší vrstvě půdy nižší dostupnost vody, což může omezit rozpustnost organických látek.

vzorek	E2/E3 (-)	E2/E4 (-)	E4/E6 (-)	Eet/Ebz (-)	SUVA254 (l·mg ⁻¹ ·m ⁻¹)	$\frac{DOM}{(mg \cdot l^{-1})}$
UH40	4,84	35,22	2,25	0,23	17,52	2,02
UH60	4,65	18,31	9,00	0,38	27,99	1,94
UH80	4,12	17,57	3,50	0,13	24,39	1,16
ZUH40	4,63	19,64	7,80	0,65	18,61	4,69
ZUH60	4,28	16,31	3,63	0,35	16,65	3,20
ZUH80	4,57	17,77	22,00	0,30	19,56	2,24

Tabulka 6: Absorpční koeficienty, SUVA254 a DOM pro jednotlivé vzorky půdního roztoku

5.4 FTIR spektrometrie

Podle infračerveného spektra je možné identifikovat různé funkční skupiny a další komponenty, které jsou součástí půdního roztoku. Nejprve bylo analyzováno ATR spektrum částic, které byly zachyceny na filtru s póry o velikosti 0,45 µm. Následně byly podrobeny analýze jednotlivé vzorky půdního roztoku.

Na obrázku 9 jsou infračervená spektra zachycených částic, během procesu filtrace vzorků půdního roztoku, odebíraných z hloubky 40 cm. První zjevný rozdíl v infračervených spektrech vzorků je patrný při vlnočtech 2928 cm⁻¹ a 2855 cm⁻¹, což odpovídá asymetrickým vibracím C-H vazeb v methylenových funkčních skupinách. U vzorku ZUH40 je pozorován výrazný absorpční pás, zatímco u vzorku UH40 je pouze malé raménko. Také intenzita dalšího absorpčního pásu je intenzivnější u vzorku ZUH40, a to při vlnočtu 1645 cm⁻¹, který odpovídá valenční symetrické vibraci C=O vazeb v sekundárních amidových skupinách. Výskyt absorpčního pásu při vlnočtu 1544 cm⁻¹ značí valenční vibraci C–N vazeb a deformační vibraci N-H vazeb v sekundárních amidech. Na základě těchto píků je odhalena přítomnost bílkovin, tedy půdní bioty. Méně intenzivní absorpční pás v oblasti 1427-1459 cm⁻¹ připadající deformačním vibracím -CH3 a -CH2- skupin. V případě tohoto absorpčního pásu je zřejmý obsah alifatických struktur, jako jsou exudáty a nerozpuštěná organická hmota suspendovaná v roztoku. Absorpční pás lokalizovaný u vzorku ZUH40 při vlnočtu 1380 cm⁻¹ signalizuje deformační asymetrickou vibraci C-H vazeb v methylových skupinách. Kromě toho je u vzorku ZUH40 pozorován intenzivní absorpční pás při vlnočtu 1277 cm⁻¹, který odpovídá valenční vibraci C-C-O v alkyl-esterech. Tento absorpční pás je podpořen další valenční vibrací C=O v alkyl esterech při vlnočtu 1745 cm⁻¹, což naznačuje přítomnost alifatických sloučenin, zejména vyšších mastných kyselin. Dále je u vzorku ZUH40 patrná valenční symetrická vibrace C-O-C v etherech, a to při vlnočtu 1160 cm⁻¹. Tato vibrace odpovídá glykosidické vazbě v polysacharidech. Intenzivní a široký pík při vlnočtu 1034 cm⁻¹ je připisován anorganickým složkám, konkrétně valenční vibraci Si–O vazeb v silikátech. Tento intenzivní pík zahrnuje i méně intenzivní rameno organické složky, a to valenční symetrickou vibraci C-O v primárních alkoholech, což je důsledek přítomnosti polysacharidů. Další absorpční pásy odpovídají anorganickým složkám, jako jsou valenční vibrace Si-O a deformační vibrace Si-O-Si vazeb v hlinitokřemičitanech, které jsou pozorovatelné v oblasti vlnočtů 996–978 cm⁻¹ a 530–490 cm⁻¹.



Obrázek 9: FTIR spektra filtrů půdních roztoků ZUH40 a UH40

Na obrázku 10 jsou uvedena infračervená spektra vzorků půdního roztoku, které byly odebrány současně z tří různých hloubek půdního horizontu. Na první pohled je u vzorků UH40 a UH60 zřejmý široký absorpční pás v rozmezí vlnočtů 3390–3378 cm⁻¹, který je připisován valenčním vibracím O–H a N–H skupin, nacházející se ve fenolech, alkoholech, amidech či karboxylových kyselinách. Tento absorpční pás je způsoben deformačními vibracemi O–H····O vazeb tvořící vodíkové můstky, což je podpořeno přítomností pásu při 1641 cm⁻¹. Tento intenzivní absorpční pás, v oblasti spekter vzorků UH40 a UH60, odpovídá valenční symetrické vibraci C=O vazeb v sekundárních amidových skupinách. Stejně tak u těchto dvou vzorků je možné pozorovat méně výrazné raménko v oblasti vlnočtů 3235–3223 cm⁻¹, které signalizuje valenční vibrace N–H vazeb v sekundárních amidech neboli odpovídá bílkovinným residuím pocházejících z mikrobiální činnosti půdní bioty, či půdní odumřelé organické hmoty. V případě UH60 a UH80 jsou zaznamenány intenzivní absorpční pásy při vlnočtech 2920 cm⁻¹

v methylenových skupinách. Vyjma vzorku UH60 jsou v infračervených spektrech, vzorků rozpuštěné organické hmoty půdního roztoku, přítomny dva intenzivní absorpční pásy při 2160 cm⁻¹ a v oblasti vlnočtů 2018–1968 cm⁻¹. Tyto absorpční pásy lze připsat valenční vibraci mezi kovovými ionty MeX⁺ a kyselými funkčními skupinami, které jsou schopny tyto ionty vázat prostřednictvím chelátových vazeb. Široký a nejintenzivnější absorpční pás u všech vzorků v oblasti 1412–1400 cm⁻¹ je indikátorem deformační vibrace O–H vazeb fenolických –OH skupin. Nicméně nesmíme opomenout i na příspěvek symetrických valenčních vibrací karboxylových funkčních skupin jako COO⁻ použitých ke komplexaci s jinými ionty. Tento absorpční pás obsahuje také raménko při vlnočtu 1480 cm⁻¹, které signalizuje antisymetrickou deformační vibraci alifatických funkčních skupin (–CH2– a –CH3). Méně výrazné absorpční pásy vyskytující se u všech vzorků v oblasti vlnočtu 1127–1078 cm⁻¹ jsou přisuzovány valenční asymetrické vibraci C–O–C a valenční symetrické vibraci C–O vazeb v alifatických etherech a sekundárních alkoholech. Absorpční pásy lokalizované v oblasti vlnočtů méně jak 900 cm⁻¹ lze s největší pravděpodobností připsat symetrické valenční vibraci rozpuštěných/suspendovaných anorganických složek jako jsou CO²₃, SO²₄, HCO³₃, NO³₃.



Obrázek 10: FTIR spektra půdních roztoků UH

Následující infračervená spektra půdních roztoků, jsou odebrána současně ze tří různých horizontů o měsíc později od předchozích vzorků UH. Infračervená spektra vzorků uvedena na obrázku 11 jsou si poměrně podobná. U všech vzorků je široký absorpční pás v oblasti 3371– 3341 cm⁻¹ připadající valenčním vibracím O–H a N–H skupinám. Dále je nutné podotknout, že tento absorpční pás rovněž odpovídá valenční symetrické vibraci samotných molekul vody, které spolu vytvářejí vodíkové můstky v daných vzorcích vysušených vrstviček organické hmoty půdního roztoku. Jinými slovy, je tento široký absorpční pás v rozmezí 3644–3050 cm⁻¹ připisován valenční symetrické vibraci O–H vazeb v molekulách H₂O, jež je následně potvrzeno přítomností absorpčního pásu při 1641 cm⁻¹, který signalizuje deformační vibrace O–H…O vazeb tvořící vodíkové můstky. Intenzivní absorpční pás v oblasti 2920 cm⁻¹ je doprovázen méně intenzivním píkem při vlnočtu 2852 cm⁻¹, jež nám prozrazuje přítomnost asymetrických a symetrických valenčních vibrací C–H vazeb tvořící –CH₃ a –CH₂–funkční skupiny. Pouze u vzorku UH80 je zřejmý absorpční pás při 1734 cm⁻¹, jež odpovídá valenční symetrické vibraci karbonylové skupiny v aryl-esterech. V oblasti fingerprintu (1500– 400 cm^{-1}) je lokalizován nejintenzivnější absorpční pás při 1424 cm⁻¹, který je spojen s valenční symetrickou vibrací karboxylátového aniontu. Dále je zde zaznamenáno raménko při 1468 cm⁻¹, které lze přiřadit deformačním vibracím C–H vazeb v methylových a methylenových funkčních skupinách. V případě vzorků ZUH60 a ZUH80 jsou lokalizovány intenzivní absorpční pásy v oblasti vlnočtů 1102–1084 cm⁻¹, jež jsou dobrým ukazatelem valenční asymetrické vibraci C–O–C a valenční symetrické vibraci C–O vazeb v alifatických etherech a sekundárních alkoholech. Následující absorpční pás při 1035–1029 cm⁻¹ odpovídá valenční symetrické vibraci C–O v primárních alkoholech či polysacharidech. V oblasti vlnočtu 865–858 cm⁻¹ se nachází absorpční pás odpovídající valenčním symetrickým vibracím CO₃^{2–} a NO₃.



Obrázek 11: FTIR spektra půdních roztoků ZUH

Pokud jsou porovnány vzorky UH a ZUH, tak je na první pohled zřejmé, že s výjimkou vzorku půdního roztoku UH80 mají ostatní vzorky široký a intenzivní absorpční pás, který značí o přítomnosti vodíkových můstcích. V infračerveném spektru vzorku UH80 je absorpční pás, který lze připsat valenční symetrické vibraci O–H vazeb v nejrůznějších funkčních skupinách, které tyto hydroxyly obsahují (alkoholy a zejména karboxylové kyseliny), nejméně intenzivní. To jsou spektrální charakteristiky, které naznačují, že tyto reaktivní funkční skupiny jsou zapojeny do tvorby chelátových vazeb s kationty kovů například Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺ a K⁺. Tato hypotéza je rovněž podpořena i velmi intenzivním absorpčním pásem, v případě vzorku UH80, v oblasti vlnočtů 2020–1968 cm⁻¹, jež patří interakcím mezi kovovými ionty a kyselými funkčními skupinami. Z infračervených spekter také vyplývá, že vzorky ZUH obsahují intenzivní absorpční pásy patřící polysacharidům a bílkovinným residuím, které pocházejí z mikrobiálních aktivit nebo z rozkladu organické hmoty. Tato zjištění jsou v souladu s výsledky naměřené koncentrace DOM, které ukazují, že vzorek ZUH obsahuje větší množství rozpuštěné organické hmoty na rozdíl od vzorků UH.

5.5 Fluorescenční spektrometrie

Vzorky půdních roztoků byly podrobeny fluorescenční spektrometrii. Změřená excitačněemisní fluorescenční spektra vzorků půdních roztoků jsou uvedena na obrázcích 12–14. Z těchto spekter byla odečtena poloha fluorescenčního maxima s příslušnou hodnotou intenzity fluorescence (I_F), které jsou uvedeny v tabulce 7. V těchto excitačně-emisních spektrech byla lokalizována dvě fluorescenční maxima, a to v oblasti vlnových délek 240–243/430–435 nm a 326–332/425–433 nm. Zjištěné fluorescenční píky byly následně identifikovány jako fluorofory A–fulvic-like a C–humic-like.

Na základě fluorescenční teorie HL resp. DOM [53] snížení intenzity fluorescence je spojeno s kvalitativními změnami těchto biokoloidních sloučenin, a to zejména ve smyslu odhadu jejich středních molekulových hmotností ($\overline{M_r}$). Přímým odrazem této skutečnosti je fenomén, který lze popsat následujícím způsobem, a to, že s rostoucí kvalitativní složitostí supramolekulárního uspořádání HL a DOM (jinými slovy $(\overline{M_r})$) klesá hodnota intenzity fluorescence, a to v důsledku kvantově-mechanické složitosti deexcitace (zářivého a nezářivého přechodu) elektronu. Dále ke snížení intenzity fluorescence přispívá do jisté míry i filtrační efekt prvního a druhého druhu. Nicméně, z důvodu měření velmi zředěných vzorků DOM lze tento jev zanedbat. Jinými slovy, v případě hodnocení těchto vzorků by byly naše soudy ohledně hodnoty IF zavádějící, a to z důvodu odlišných koncentrací odebraných půdních roztoků, proto byla pro porovnání vzorků vypočtena normalizovaná intenzita fluorescence (viz tabulka 7). Naproti tomu opačný efekt má přítomnost elektron-akceptorních funkčních skupin např. -COOH jejichž přítomnost je doprovázena snížením intenzity fluorescence. Použitá fluorescenční spektrometrie je velmi dobrým aparátem k potvrzení již vyřčených závěrů, a to ve smyslu, že v nižších vrstvách půdního profilu se nachází mobilní rozpuštěná organická hmota o vyšší molekulové hmotnosti, složitější molekulární architektuře a v neposlední řadě i zvýšení množství polárních substituentů na Ar jednotkách. Jestliže je pozornost zaměřena na porovnání vzorků půdních roztoků odebraných v prosinci (UH) a v lednu (ZUH), tak je zřejmé, že vzorky půdního roztoku UH obsahují výrazně vyšší hodnoty intenzity fluorescence na rozdíl od vzorků ZUH. Tento fakt značí o tom, že během měsíce došlo ke zvýšení střední molekulové hmotnosti, a tedy ke složitosti supramolekulárního uspořádání DOM.

		Fulvic-like		Hum	nic-like	
vzorek	$\lambda_{\rm ex}/\lambda_{\rm em}$ (nm)	$\frac{I_{\rm F}}{({\rm CPS})\times 10^5}$	$\frac{I_{F,norm.}}{\left(\frac{CPS}{mg\cdot l}\right)} \times 10^5$	λ _{ex} /λ _{em} (nm)	$\frac{I_{\rm F}}{({\rm CPS})\times 10^5}$	$\frac{I_{F,norm.}}{\left(\frac{CPS}{mg\cdot l}\right)} \times 10^5$
UH40	240/435	3,54	1,75	330/430	2,14	1,06
UH60	240/430	2,34	1,21	326/426	1,25	0,64
UH80	240/431	1,88	1,63	330/425	0,99	0,86
ZUH40	240/435	1,90	0,41	331/433	1,16	0,25
ZUH60	240/433	1,46	0,46	332/430	0,88	0,28
ZUH80	243/435	1,45	0,65	332/429	0,87	0,39

Tabulka 7: Stanovené polohy fluoroforů A-fulvic-like a C-humic-like a jejich intenzita fluorescence

Jak již bylo diskutováno výše, tak všechny vzorky rozpuštěné organické hmoty obsahovaly dvě typická fluorescenční maxima, a to fulvic-like a humic-like [53]. Všechny fluorescenční domény se lišily v rámci svých pozic v EEM spektrech jen málo. Pokud si uvědomíme, s jakým krokem měření tzn. vlnovou délkou byla EEM spektra měřena (krok měření 5 nm), tak jednotlivé rozdíly jejich pozice v rámci několika nanometrů nejsou diskutabilní. Jinými slovy, jednotlivé rozdíly v pozic mohou být způsobeny modelací EEM spekter ve vyhodnocovacím programu Origin.



Obrázek 12: Excitačně-emisní spektrum vzorků půdního roztoku UH40 (vlevo) a ZUH40 (vpravo)



Obrázek 13: Excitačně-emisní spektrum vzorků půdního roztoku UH60 (vlevo) a ZUH60 (vpravo)



Obrázek 14: Excitačně-emisní spektrum vzorků půdního roztoku UH80 (vlevo) a ZUH80 (vpravo)

5.6 Dynamický rozptyl světla

Jednotlivé vzorky půdního roztoku byly podrobeny měření DLS, za účelem zjištění indexu polydisperzity a zastoupení jednotlivých velikostí částic. Na základě hodnoty indexu polydisperzity lze zjistit stupeň heterogenity velikosti částic v daném systému. Jestliže je index polydisperzity menší než jedna, tak to znamená, že částice mají podobnou velikost a distribuce je úzká čili roztok se blíží monodisperznímu stavu. V tabulce 8 je zřejmé, že distribuce velikostí částic v dané disperzi je relativně homogenní u všech vzorků. Též je patrné, že vzorky půdních roztoků odebrané v prosinci (UH) vykazují širší rozsah velikostí částic než vzorky odebrané v lednu (ZUH), což je viditelné i na obrázku 15 a 16.

vzorek	index polydisperzity
UH40	0,49
UH60	0,48
UH80	0,45
ZUH40	0,30
ZUH60	0,32
ZUH80	0,28

Tabulka 8: Index polydisperzity vzorků půdního roztoku UH a ZUH

Na obrázku 15 a 16 je uvedena objemová distribuce částic ve vzorcích půdního roztoku. Jak už bylo zmíněno, tak lze na první pohled vidět, že distribuce velikosti částic ve vzorcích půdního roztoku ZUH je užší ve srovnání se vzorky UH. Jestliže je pozornost zaměřena na velikost částic jednotlivých půdních horizontů, tak si lze povšimnout, že vzorek v hloubce 80 cm obsahuje velmi širokou distribuci velikostí částic s nejvíce zastoupenými částicemi o střední hodnotě velikosti 220 nm (UH80) a 255 nm (ZUH80). Na obrázku 15 lze vidět, že vzorek půdního roztoku v hloubce půdního horizontu 60 cm (UH60) vykazuje širokou distribuci různých velikostí částic, přičemž je zde také vidět výrazný pík při částicích o velikosti 24 nm. O měsíc později ve stejném horizontu (ZUH60) je distribuce částic relativně úzká, jehož maximum je v oblasti velikostí 147 nm. V horních vrstvách půdy v prosinci, tedy v 40 cm (UH40) se půdní roztok skládá převážně z částic o velikosti 35 nm. Nicméně, jak ukazuje obrázek 16, tak za pouhý měsíc, tedy v lednu, se velikost částic v tomto horizontu (ZUH40) výrazně změnila. Nárůst velikosti částic ve vzorcích ZUH koresponduje s výsledky získanými z EEM, kde právě vzorky ZUH vykazují vyšší střední molekulovou hmotnost ve srovnání se vzorky UH.



Obrázek 15: Objemová distribuce vzorků půdního roztoku UH



Obrázek 16: Objemová distribuce vzorků půdního roztoku ZUH

5.7 Zeta potenciál

Měření zeta potenciálu poskytuje informace o stabilitě suspenze. Jestliže mají částice v suspenzi vysoký negativní nebo pozitivní zeta potenciál, odpuzují se navzájem, což brání jejich shlukování neboli koagulaci. Obecně je hranice stability suspenze stanovena v rozmezí od +30 do -30 mV a částice, které mají zeta potenciál mimo toto rozmezí jsou považovány za stabilní. Jestliže je zeta potenciál roven nule, znamená to, že částice v roztoku jsou elektricky neutrální a mají nulový elektrický náboj. V půdním prostředí může dojít ke zcela neutrálním povrchům částic, například vlivem iontů obsažených v roztoku.

Nicméně, jestliže částice mají nízké hodnoty zeta potenciálu, jak je tomu v případě vzorků půdních roztoků (viz obrázek 17), tak elektrický náboj není dostatečný ke vzájemnému odpuzování, což vede ke shlukování částic. Na obrázku 17 je zřejmé, že hodnoty zeta potenciálu vzorků půdních roztoků nedosahují ani –10 mV. Toto naznačuje, že zeta potenciál vzorků půdního roztoku je velmi nízký, částice jsou nestabilní a mají tendenci vytvářet agregáty.

Obecně platí, že zeta potenciál je nepřímo úměrný vodivosti roztoku, což se potvrdilo a zeta potenciál se zvyšuje s klesající vodivostí. Nicméně je pravděpodobné, že na zeta potenciál má vliv i obsah DOM. Z naměřených dat vyplývá, že vzorky půdního roztoku ZUH obsahují vyšší koncentraci DOM. Architektura supramolekulárního uspořádání DOM je vystavěna stavebními kameny s obsahem elektron-akceptorních funkčních skupin, což pravděpodobně vede ke zvýšení hodnoty zeta potenciálu, a tedy celkově ke zvýšení stability půdního roztoku.



Obrázek 17: Zeta potenciál vzorků půdních roztoků UH a ZUH

6 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce byla komplexní fyzikálně-chemická charakterizace půdních roztoků, zejména se zaměřením na studium stability a molekulární architektury rozpuštěné organické hmoty. Jak z experimentální části vyplývá, tato diplomová práce analyzuje šest vzorků půdních roztoků z téže lokality, přičemž tři vzorky byly odebrány v prosinci (UH) a zbývající tři vzorky o měsíc později v lednu (ZUH). Tyto odebrané vzorky byly odebírány z různých půdních horizontů, a to konkrétně ve 40, 60 a 80 cm pod povrchem půdy. Následně bylo provedeno několik analytických metod, které poskytly ucelenou představu o jednotlivých půdních roztocích.

Na základě provedených analýz, lze porovnat vzorky půdního roztoku z různé odběrové hloubky. Bylo zaznamenáno, že se snižující hloubkou klesá hodnota pH i vodivosti, a to pravděpodobně v důsledku postupné adsorpce iontů z půdního roztoku na půdní částice. Dále bylo zjištěno, že nižší vrstvy půdního profilu obsahují vyšší koncentraci humifikovaných a komplexních organických sloučenin s vyšší střední molekulovou hmotností, což bylo patrné jak z hodnot absorpčních koeficientů, tak z intenzit fluorescence fluoroforů A–fulvic-like a C–humic-like. Tento jev lze pravděpodobně vysvětlit tím, že hlubší části půdy mají více času na akumulaci organického materiálu, který následně podléhá procesu humifikace.

Jestliže je pozornost zaměřena na změny, které nastaly ve vzorcích půdního roztoku během jednoho měsíce, tak bylo zjištěno, že došlo ke snížení pH i vodivosti těchto roztoků. Tyto změny korespondují s výsledky z ICP-OES a ICP-MS, které ukazují nižší koncentraci iontů v těchto půdních roztocích (ZUH). Také lze z ICP-MS vyvodit, že nižší pH je pravděpodobně způsobeno vyšší koncentrací hlinitých kationtů. Koncentrace rozpuštěné organické hmoty, stanovená pomocí UV/Vis spektrometrie, byla mnohem vyšší ve vzorcích odebíraných po měsíci (ZUH). Tento fakt je v dobré shodě s výsledky z fluorescenční spektrometrie, které ukazují zvýšení střední molekulové hmotnosti DOM a vytvoření složitého kvalitativního supramolekulárního uspořádání s množstvím elektron-akceptorních funkčních skupin. Významný nárůst velikosti částic, v případě vzorků ZUH, odpovídá i naměřeným výsledkům DLS. Pokud se zaměříme na zvýšený obsah elektron-akceptorních funkčních skupin, tak lze v infračervených spektrech pozorovat nejintenzivnější absorpční pás patřící valenční symetrické vibraci karboxylátového aniontu. Na základě analýzy infračervených spekter byl pozorován obsah chelátových vazeb mezi kovovými ionty a kyselými funkčními skupinami. Vedle širokých a intenzivních pásů, způsobených valenčními vibracemi molekul vody, jsou v těchto spektrech vzorků ZUH, také identifikovány absorpční pásy příslušející bílkovinám a polysacharidům. Hodnota zeta potenciálu poukazuje na nestabilitu částic v půdním roztoku. Nicméně je patrné, že s vyšší koncentrací DOM, jež vykazovaly vzorky ZUH, se hodnota zeta potenciálu snižuje, částice mají větší tendenci se odpuzovat a celkově tak dosáhnout vyšší stability půdního roztoku.

Výsledky této diplomové práce odhalují komplexnost a dynamiku půdního roztoku jako zásadního faktoru ovlivňujícího složení půdy a procesy v ní probíhající. Tato dynamika půdního roztoku má klíčový význam pro pochopení půdního ekosystému a jeho dopadu na agrikulturu a životní prostředí. Tuto komplexní fyzikálně-chemickou charakterizaci půdních

roztoků by bylo vhodné rozšířit o další měsíce, abychom lépe pochopili sezónní fluktuace, včetně změn teploty, srážek a biologické aktivity.

7 LITERATURA

- BLUM, Winfried E. H. Functions of Soil for Society and the Environment. Online. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. 2005, roč. 4, č. 3, s. 75-79. ISSN 1569-1705. Dostupné z:. [cit. 2023-11-23].
- [2] *Soil composition*. Online. Agriculture | UniversityAgro.ru. 2022. Dostupné z: https://universityagro.ru/en/agrochemistry/soil-composition/#Liquid_phase. [cit. 2023-11-23].
- [3] SPOSITO, Garrison. *The chemistry of soils*. 2nd ed. Oxford: Oxford Univ. Press, 2008. ISBN 978-0-19-531369-7.
- [4] *Importance of soil solution*. Online. Plantlet. 2020. Dostupné z: https://plantlet.org/importance-of-soil-solution/. [cit. 2023-11-23].
- [5] ŠIMEK, Miloslav. Živá půda. Praha: Academia, 2019. ISBN 978-80-200-2976-8.
- [6] BUSCOT, François a VARMA, A. *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions*. New York: Springer, 2005. ISBN 3-540-22220-0.
- [7] MAGDOFF, Fred a VAN ES, Harold. *Building soils for better crops*. 4rd ed. Sustainable Agriculture Research and Education, 2021. ISBN 978-1-888626-19-3.
- [8] WEBER, Jerzy. Definition of soil organic matter. *Humintech: Humic acids based products*. 2002.
- [9] BOLAN, Nanthi S.; ADRIANO, Domy C.; KUNHIKRISHNAN, Anitha; JAMES, Trevor; MCDOWELL, Richard et al. Dissolved organic matter: biogeochemistry, dynamics, and environmental significance in soils. Online. Advances in Agronomy. 2011, roč. 110, s. 1-75. ISBN 9780123855312. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385531-2.00001-3. [cit. 2023-11-23].
- [10] HILLEL, Daniel. *Encyclopedia of soils in the environment*. Academic Press, 2004. ISBN 0123485304.
- [11] NIEMINEN, Tiina Maileena. *Response of Scots pine (Pinus sylvestris L.) to a longterm Cu and Ni exposure.* Online. 2005. ISBN 952-10-2481-X. [cit. 2024-01-13].
- [12] DING, Yang; SHI, Zhenqing; YE, Qianting; LIANG, Yuzhen; LIU, Minqin et al. Chemodiversity of Soil Dissolved Organic Matter. Online. *Environmental Science & Technology*. 2020, roč. 54, č. 10, s. 6174-6184. ISSN 0013-936X. Dostupné z: https://doi.org/10.1021/acs.est.0c01136. [cit. 2023-11-23].
- [13] SMRECZAK, Bozena a UKALSKA-JARUGA, Aleksandra. Dissolved organic matter in agricultural soils. Online. *Soil Science Annual*. 2021, č. 72.1., s. 1-10. Dostupné z: https://www.soilsa.com/pdf-132234-62044?filename=Dissolved%20organic%20matter.pdf. [cit. 2024-01-18].

- [14] STEVENSON, F. J. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions.* 2nd ed. New York: Wiley, 1994. ISBN 04-715-9474-1.
- [15] MANNINO, Antonio a HARVEY, H. Rodger. Lipid composition in particulate and dissolved organic matter in the Delaware Estuary: sources and diagenetic patterns. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1999, roč. 63, č. 15, s. 2219-2235.
- [16] WESLEY, Chun. *Amino Acids*. Online. In: Grower's Secret. 2022. Dostupné z: https://www.growerssecret.com/blog/amino-acids. [cit. 2024-01-28].
- [17] PETTIT, Robert E. Organic matter, humus, humate, humic acid, fulvic acid and humin: their importance in soil ferility and plant health. Online. In: . CTI Research, s. 1-7. Dostupné z: https://humates.com/wp-content/uploads/2020/04/ORGANICMATTERPettit.pdf. [cit. 2024-01-18].
- [18] STEVENSON, F. J. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions.* 2nd ed. New York: Wiley, 1994. ISBN 04-715-9474-1.
- [19] SHABAN, I. S. a MIKULAJ, V. Impact of an anionic surfactant addition on solubility of humic acid in acid-alkaline solutions. *Chem. Papers*. 1998, roč. 52, s. 753-755.
- [20] PIVOKONSKÝ, Martin; VAŠATOVÁ, Petra; NAČERADSKÁ, Jana a PIVOKONSKÁ, Lenka. Koagulace při úpravě vody: teorie a praxe. Praha: Academia, 2020. ISBN 978-80-200-3116-7.
- [21] MARSCHNER, Bernd a KALBITZ, Karsten. Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma*. 2003, roč. 113, č. 3-4, s. 211-235.
- [22] MOORE, William Michael; DUPONT, R. Ryan a MCLEAN, Joan E. Soil phase photodegradation of toxic organics at contaminated disposal sites for soil renovation and groundwater quality protection. *Reports*. 1989.
- [23] KATAGI, Toshiyuki. Photodegradation of pesticides on plant and soil surfaces. *Reviews of environmental contamination and toxicology: Continuation of residue reviews*. 2004, roč. 182, s. 1-78.
- [24] SPENCE, Adrian a KELLEHER, Brian P. Photodegradation of major soil microbial biomolecules is comparable to biodegradation: Insights from infrared and diffusion editing NMR spectroscopies. *Journal of Molecular Structure*. 2016, roč. 1107, s. 7-13.
- [25] FERNANDO, Salani U., et al. Lysimeter Sampling System for Optimal Determination of Trace Elements in Soil Solutions. *Water*. 2023, roč. 15, č. 3277, s. 1-22.

- [26] CABRERA CORRAL, Francisco Javier; BONACHELA CASTAÑO, Santiago; FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ, María Dolores; GRANADOS GARCÍA, María Rosa a LÓPEZ HERNÁNDEZ, Juan Carlos. Lysimetry methods for monitoring soil solution electrical conductivity and nutrient concentration in greenhouse tomato crops. Online. *Agricultural Water Management*. 2016, č. vol. 178, s. 171-179. ISSN 03783774. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.agwat.2016.09.024. [cit. 2023-11-23].
- [27] HYNŠT, Jaroslav; PRCHALOVÁ, Renáta a KLEMENT, Vladimír. Lyzimetrická sledování: bilance a vyplavování živin během 30 let lyzimetrických sledování ÚKZÚZ (1986-2016). Brno: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Sekce zemědělských vstupů, Oddělení výživy rostlin, 2018. ISBN 978-80-7401-154-2.
- [28] SPARKS, Donald L. et al. (ed.). *Methods of soil analysis, part 3: Chemical methods*. John Wiley, 2020. ISBN 978-0-891-18825-4.
- [29] HARTEMINK, Alfred E., et al. *Soil carbon*. Springer International Publishing, 2014. ISBN 978-3-319-04083-7.
- [30] CUNHA, Tony Jarbas Ferreira, et al. Spectroscopy characterization of humic acids isolated from Amazonian dark earth soils (Terra Preta de Índio). *Amazonian dark earths: Wim Sombroek's vision*. 2009, s. 363-372.
- [31] FUENTES, Marta; GONZÁLEZ-GAITANO, Gustavo a GARCÍA-MINA, José Ma. The usefulness of UV–visible and fluorescence spectroscopies to study the chemical nature of humic substances from soils and composts. *Organic Geochemistry*. 2006, roč. 37, č. 12, s. 1949-1959.
- [32] WEISHAAR, James L., at al. Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environmental science & technology*. 2003, roč. 37, č. 20, s. 4702-4708.
- [33] ZHAO, Li, et al. The ultraviolet–visible absorbance and fluorescence characterization of dissolved organic matter derived from the leaf litter of Populus simonii, Artemisia desertorum, Salix cheilophila, and Populus tomentosa. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020, roč. 27, s. 36439-36449. Dostupné také z: https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-020-09600-8.
- [34] TERKHI, M. C., et al. Fourier transform infrared study of mercury interaction with carboxyl groups in humic acids. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2008, roč. 198, č. 2-3, s. 205-214.
- [35] NOVÁK, František, et al. Kvantitativní FTIR spektrometrie huminových látek. *Chemické listy.* 2017, roč. 111, č. 6, s. 363-373.
- [36] WANG, Xin-yuan, et al. Photochemical reactivity of humic substances in an aquatic system revealed by excitation-emission matrix fluorescence. *Frontiers in Chemistry*. 2021, roč. 9.

- [37] SIERRA, M. M. D., et al. Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques. *Chemosphere*. 2005, roč. 58, č. 6, s. 715-733.
- [38] PALMER, Noel E. a VON WANDRUSZKA, Ray. Dynamic light scattering measurements of particle size development in aqueous humic materials. *Fresenius' journal of analytical chemistry*. 2001, roč. 371, s. 951-954.
- [39] BUNKIN, Nikolai F., et al. Identification of organic matter dispersions based on light scattering matrices focusing on soil organic matter management. *ACS omega*. 2020, roč. 5, č. 51, s. 33214-33224.
- [40] PLAZA, I., et al. Implication of zeta potential and surface free energy in the description of agricultural soil quality: Effect of different cations and humic acids on degraded soils. Online. *Soil and Tillage Research*. 2015, roč. 146, s. 148-158. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167198714002220. [cit. 2024-04-19].
- [41] SHEN, Siqi; YANG, Shengke; LUO, Mengya, et al a . Effect of dissolved organic matter on adsorption of sediments to Oxytetracycline: An insight from zeta potential and DLVO theory. Online. *Environmental Science and Pollution Research*. 2019, roč. 27, s. 1697-1709. Dostupné z: https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-019-06787-3. [cit. 2024-04-19].
- [42] ALI, M.F a SHAKRANI, S. A. A Comparison of ICP-OES and UV-Vis Spectrophotometer for Heavy Metals Determination in Soil Irrigated with Secondary Treated Wastewater. *International Journal of Civil & Environmental Engineering*. 2014, roč. 14, č. 1, s. 8-15.
- [43] WILSCHEFSKI, Scott a BAXTER, Matthew. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. Online. *Clinical Biochemist Reviews*. 2019, roč. 40, č. 3, s. 115-133. Dostupné z: https://doi.org/10.33176/AACB-19-00024. [cit. 2024-04-16].
- [44] TRAVERSA, Andreina, et al. Chemical and spectroscopic characteristics of humic acids and dissolved organic matter along two Alfisol profiles. Online. *Chemosphere*. 2014, roč. 111, s. 184-194. [cit. 2024-02-03].
- [45] PÄRNPUU, Sandra, et al. Soil organic matter qualification with FTIR spectroscopy under different soil types in Estonia. Online. *Geoderma Regional*. 2022, roč. 28, č. e00483. [cit. 2024-02-03].
- [46] LI, Wen, et al. A new view into three-dimensional excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy for dissolved organic matter. Online. Science of the Total Environment. 2023, roč. 855, č. 158963. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969722060624?via%3Dihub . [cit. 2024-02-01].

- [47] ANDERSSON, Erika, et al. Generation and properties of organic colloids extracted by water from the organic horizon of a boreal forest soil. Online. *Geoderma*. 2023, roč. 432, č. 116386. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016706123000630. [cit. 2024-02-03].
- [48] *Soil pH.* Online. Queensland Government. Dostupné z: https://www.qld.gov.au/environment/land/management/soil/soil-properties/ph-levels. [cit. 2024-03-09].
- [49] *Soil pH*. Online. Cropnutrition. Dostupné z: https://www.cropnutrition.com/nutrientmanagement/soil-ph/. [cit. 2024-03-09].
- [50] Soil Health Assessment: Chemical Properties, Soil Electrical Conductivity. Online. In: Natural Resources Conservation Service. 2011. Dostupné z: https://www.nrcs.usda.gov/conservation-basics/natural-resource-concerns/soils/soilhealth/soil-health-assessment. [cit. 2024-03-09].
- [51] Soil-Nutrient Relationships. Online. UNIVERSITY OF HAWAI'I AT MANOA. Soil Nutrient Management for Maui County. Dostupné z: https://www.ctahr.hawaii.edu/mauisoil/c_relationship.aspx. [cit. 2024-04-17].
- [52] XIAOSHUANG, Li, et al. Distribution of Water and Salt Ions in a Saline-Alkali Wheat Field under Freeze-Thaw Conditions. Online. International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences. 2020, č. 10, s. 035-053. Dostupné z: https://www.fortunejournals.com/articles/distribution-of-water-and-salt-ions-in-asalinendashalkali-wheat-field-under-freezendashthaw-conditions.pdf. [cit. 2024-04-17].
- [53] BIRDWELL, Justin E. a ENGEL, A. S. Characterization of dissolved organic matter in cave and spring waters using UV–Vis absorbance and fluorescence spectroscopy. Online. *Organic Geochemistry*. 2010, roč. 41, č. 3. [cit. 2024-04-12].

8 SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

8.1 Seznam zkratek

ATR	zeslabená úplná reflektance (Attenuated Total Reflection)
DLS	dynamický rozptyl světla (Dynamic Light Scattering)
DOC	rozpuštěný organický uhlík (Dissolved Organic Carbon)
DOM	rozpuštěná organická hmota (Dissolved Organic Matter)
EEM	excitačně-emisní matice (spektra)
FK	fulvinové kyseliny
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
HK	huminové kyseliny
HL	huminové látky
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICP-OES	optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
POM	částicová organická hmota (Particulate Organic Matter)
SOM	půdní organická hmota (Soil Organic Matter)
UV/Vis	ultrafialová a viditelná oblast elektromagnetického záření
UV-B	středněvlnné ultrafialové záření
UV-C	krátkovlnné ultrafialové záření

8.2 Seznam symbolů

E_2/E_3	poměr absorbancí při vlnových délkách 250 nm a 365 nm
E_2/E_4	poměr absorbancí při vlnových délkách 265 nm a 465 nm
E_{4}/E_{6}	poměr absorbancí při vlnových délkách 465 nm a 665 nm
E_{ET}/E_{BZ}	poměr absorbancí při vlnových délkách 253 nm a 220 nm
I _F	intenzita fluorescence
$\overline{M_r}$	střední molekulová hmotnost
SUVA ₂₅₄	specifická UV absorbance při vlnové délce 254 nm

PŘÍLOHY



Příloha 1: UV/Vis spektra vzorků půdního roztoku UH



Příloha 2: UV/Vis spektra vzorků půdního roztoku ZUH